

TARTU ÜLIKOOL
LOODUS- JA TÄPPISTEADUSTE VALDKOND
MOLEKULAAR- JA RAKUBIOLOOGIA INSTITUUT
BIOTEHNOLOOGIA ÕPPETOOL

**Kõrge olulisusega ravimi kõrvaltoimeid põhjustavate
farmakogeneetiliste seoste replikatsioon Eesti Geenivaramu
andmetel**

Magistritöö (40 EAP)

Biomeditsiin

Mattis Jaama

Juhendajad MSc Tõnis Tasa

PhD Lili Milani

TARTU 2017

INFOLEHT

Kõrge olulisusega ravimi kõrvaltoimeid põhjustavate farmakogeneetiliste seoste replikatsioon Eesti Geenivaramu andmetel

Lühikokkuvõte: Ravimid mõjuvad inimestele erinevalt. Üheks varieeruvuse põhjustajaks on geneetilised variatsioonid, mille tuvastamisega tegeleb farmakogeneetika. Farmakogeneetika on alus personaalmeditsiinile, mille eesmärgiks on tagada igale indiviidile ohutu ja efektiivne ravi.

Kliiniliselt olulised farmakogeneetilised seosed, mis põhjustavad ravimite kõrvaltoimeid, on koondatud PharmGKB andmebaasi, mille põhjal koostati käesolevas töös Tartu Ülikooli Eesti Geenivaramu geenidonorite andmetel assotsiatsioonianalüüsid tuvastamaks varasemalt raporteeritud seoste replitseeritavus populatsioonandmetel. Analüüsides tuvastati seitse seost, millest ükski polnud statistiliselt oluline, seega seoste replitseeritavust ei saa kinnitada.

Märksõnad: farmakogeneetika, ravimi kõrvaltoimed, assotsiatsioonianalüüs

CERCS: B110 bioinformaatika, meditsiiniinformaatika, biomatemaatika, biomeetrika

Replication of highly significant pharmacogenetical interactions causing adverse drug reactions based on Estonian Genome Center

Abstract: Individuals respond differently to drug therapy. One factor affecting drug response is genetic variation, which is studied by pharmacogenetics. Pharmacogenetics is the backbone of personalized medicine, that strives to achieve safe and effective treatment to every individual.

Clinically important pharmacogenetical interactions causing adverse drug reactions, are gathered to PharmGKB database. Association analysis based on Tartu University Estonian Genome Center's gene donor's data was run based on the constructed dataset from studies reported in PharmGKB database. The aim of this study was to replicate these interactions with drugs and adverse drug reactions in Estonian gene donor's cohort. Based on the results of this study, replication of clinically important interactions from PharmGKB database in Estonian gene donor's cohort cannot be confirmed, because all identified associations were statistically non-significant.

Keywords: pharmacogenetics, adverse drug reactions, association analysis

CERCS: B110 bioinformatics, medical informatics, biomathematics, biometrics

SISUKORD

INFOLEHT	2
KASUTATUD LÜHENDID	5
SISSEJUHATUS	6
1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE	7
1.1 Farmakogeneetika	7
1.1.1 Geneetilised variatsioonid	9
1.1.1.1 Ravimeid metaboliseerivad ensüümid	10
1.1.2 Andmebaasid	13
1.1.2.1 PharmGKB	14
1.1.3 Kliiniline rakendus.....	16
1.2. Assotsiatsioonianalüüsid	17
1.2.1 Ülegenoomne assotsiatsiooniuuring	18
1.2.2 Metaanalüüs	20
1.2.3 Fenotüübiandmed	21
1.2.3.1 Rahvusvaheline haiguste klassifikatsioon (ICD)	21
1.2.3.2 Ravimite klassifikatsioon (ATC).....	22
2. UURIMUS	23
2.1 Töö eesmärk	23
2.2 Materjalid ja metoodika	23
2.2.1 Referentsandmestiku koostamine	23
2.2.2 Valim ja genotüpiseerimine	24
2.2.3 Assotsiatsioonianalüüs	25
2.2.3 Metaanalüüs	25

2.3 Tulemused	26
2.3.1 Assotsiatsioonianalüüs	26
2.3.2 Võrdlus referentsandmestikuga	27
2.3.3 Metaanalüüs	29
2.4 Arutelu.....	34
KOKKUVÕTE	38
SUMMARY.....	39
TÄNUAVALDUSED.....	41
KASUTATUD KIRJANDUS	42
KASUTATUD VEEBIAADRESSID	49
LISAD.....	50
LIHTLITSENTS.....	54

KASUTATUD LÜHENDID

ABC	ATP-d siduv domeen, <i>ATP-binding cassette</i>
ATC	anatoomilis-terapeutiline keemiline (klassifikatsioon), <i>Anatomical Therapeutic Chemical (Classification)</i>
CI	usaldusvahemik, <i>confidence interval</i>
CPIC	Kliinilise Farmakogeneetika Rakendamise Konsortsium, <i>Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium</i>
CYP	tsütokroom P450, <i>cytochrome P450</i>
EM	kiire metaboliseerija, <i>extensive metabolizer</i>
EMA	Euroopa Ravimiamet, <i>European Medicines Agency</i>
FDA	Ameerika Toidu- ja Ravimiamet, <i>Food and Drug Administration</i>
GWAS	ülegenoomne assotsiatsiooniuuring, <i>Genome-Wide Association Study</i>
HGP	Inimese Genoomi Projekt, <i>Human Genome Project</i>
ICD	rahvusvaheline haiguste ja tervisega seotud probleemide statistiline klassifikatsioon, <i>International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems</i>
IM	vahepealne metaboliseerija, <i>intermediate metabolizer</i>
LD	aheldustasakaalutus, <i>linkage disequilibrium</i>
OATP	orgaaniline aniooni transportiv polüpeptiid, <i>organic anion-transporting polypeptide</i>
OR	šansside suhe, <i>odds ratio</i>
PCA	peakomponentanalüüs, <i>principal component analysis</i>
PGMD	Farmakogenoomika Mutatsioonide andmebaas, <i>Pharmacogenomics Mutation Database</i>
PharmGKB	Farmakogenoomika Teadmiste andmebaas, <i>Pharmacogenomics Knowledgebase</i>
PM	aeglane metaboliseerija, <i>poor metabolizer</i>
PMID	PubMedi identifikaatorinumber, <i>PubMed IDentification number</i>
rs#	SNP-i viite number, <i>Reference SNP number</i>
SNP	ühenukleotiidne polümorfism, <i>single nucleotide polymorphism</i>
TÜ EGV	Tartu Ülikooli Eesti Geenivaramu
UM	väga kiire metaboliseerija, <i>ultra-rapid metabolizer</i>
VIP	eriti tähtis farmakogeen, <i>very important pharmacogene</i>
WHO	Maailma Terviseorganisatsioon, <i>World Health Organization</i>

SISSEJUHATUS

Ravimite mõju on populatsioonis väga varieeruv. Sama ravim, mis ühele indiviidile sobib, võib teisele põhjustada tõsiseid kõrvaltoimeid. Varieeruvust mõjutavad mitmed faktorid, nende hulgas ka geneetilised variatsioonid. Ravimvastuse seoseid geneetikaga uurib farmakogeneetika valdkond. Farmakogeneetika on personaalmeditsiini alustala, mille peamiseks eesmärgiks on võimaldada igale indiviidile ohutu ja efektiivne ravi.

Ravimvastust mõjutavad geneetilised variatsioonid paiknevad peamiselt ravimeid metaboliseerivaid ensüüme, ravimi transportereid või ravimi sihtmärke kodeerivates geenides, aga ka teistes genoomi piirkondades. Tuvastamiseks ravimvastust mõjutavaid geneetilisi markereid, kasutatakse farmakogeneetilisi assotsiatsioonianalüüse.

Analüüside tulemusel tuvastatud kliiniliselt oluliste ravimite ja genotüüpide seosed koondatakse PharmGKB andmebaasi, mis sisaldab praeguseks sadu seoseid geneetiliste markerite ning ravimite efektiivsuse, metabolismi, doseerimise, toksilisuse ja kõrvaltoimete kohta.

Käesolevas töös koostatati PharmGKB andmebaasi põhjal kliiniliselt oluliste geneetiliste markerite ning ravimite kõrvaltoimete seostest andmestik. Referentsandmestiku seoste põhjal teostatati assotsiatsioonianalüüsid Tartu Ülikooli Eesti Geenivaramu geenidoonorite andmetel, tuvastamaks seoste olemasolu või puudumise tuginedes populatsiooniandmetele.

Käesoleva magistritöö eesmärgiks oli PharmGKB andmebaasi 1A ja 1B kindluse määraga ravimi toksilisuse või kõrvaltoimetega seotud ravim-genotüüp assotsiatsioonide replitseerimine geenidoonorite kohordis kasutades elektroonistes terviseandmetes olemasolevaid andmeid.

1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

1.1 Farmakogeneetika

Personaalmehitsiini idee sai alguse juba 19.sajandi lõpus kui Kanada arst Sir William Osler täheldas suurt varieeruvust indiidide vahel. Ta andis mõista, et meitsiin on äärmiselt loominguline teadusharu, milles ühele probleemile või küsimusele ei ole alati ühte kindlat lahendust (Issa, 2007).

Sellest ajast on idee edasi arenenud ning mõiste on saanud täpsema vormi ja sisu. Personaalmehitsiin on geenitehnoloogial põhinev lähenemine, mis võimaldab perekondliku ja kliinilise informatsiooni ning geneetika vaheliste seoste abil individualiseerida patsiendi ennetuslikku või terapeutilist raviplaani (Issa, 2007).

Personaalmehitsiini vajalikkus tuleneb ravimite erinevast mõjust – mõnel indiidil töötab ravim hästi, saavutades vajaliku ravimvastuse, kuid teisel ei ole anna ravim oodatavat tulemit ning võib põhjustada hoopis soovimatuid kõrvaltoimeid. Seetõttu tulebki indiidide geneetilist varieeruvust arvesse võtta juba esmase raviplaani koostamisel (Schork, 2015). Arstid ja teadlased küll teadvustavad probleemi, kuid ravimvastuse varieeruvust põhjustavate faktorite väljaselgitamine ei ole lihtne, kuna varieeruvust põhjustavad sageli väga kompleksed tunnused (Ma ja Lu, 2011).

Kui ajalooliselt on ravimite väljatöötamisel lähtunud peamiselt kõikidele sobiva ravimi (*one-size-fits-all*) printsiibist, eeldab personaalmehitsiin vastupidist. Personaalmehitsiini eesmärgiks on leida igale indiidile sobiv ravim ja määrata õige ravimi annus, mille kasu on maksimaalne ning potentsiaalne kahju on minimaalne. Ravimi kasulikkust ja kahjulikkust saab hinnata ravimvastuse abil. Ravimvastus kujuneb kahest komponendist, ravimi efektiivsusest ning ravimi ohutusest. Efekttiivne ravi väljendub haiguse taandumise või kontrolli alla saamisena ning ebaefektiivsel ravil on vähene või olematu mõju paranemisele. Ohutu ravimvastus ei tekita ravimi manustamisel patsiendile lisanduaid komplikatsioone kõrvaltoimete näol. Äärmuslikel juhtudel võib ravimi kasutamine lõppeda letaalselt (Nelson jt., 2016).

Individuaalse ravimvastuse varieeruvust ei mõisteta täielikult (Senn, 2004) ja varieeruvuse põhjustajaks võib olla erinevad faktorid, mis jagunevad geneetilisteks, keskkondlikeks ning füsioloogilisteks mõjuriteks (Tabel 1) (Ma ja Lu, 2011).

Tabel 1. Ravimvastuse varieeruvust põhjustavad faktorid (aluseks Ma ja Lu, 2011).

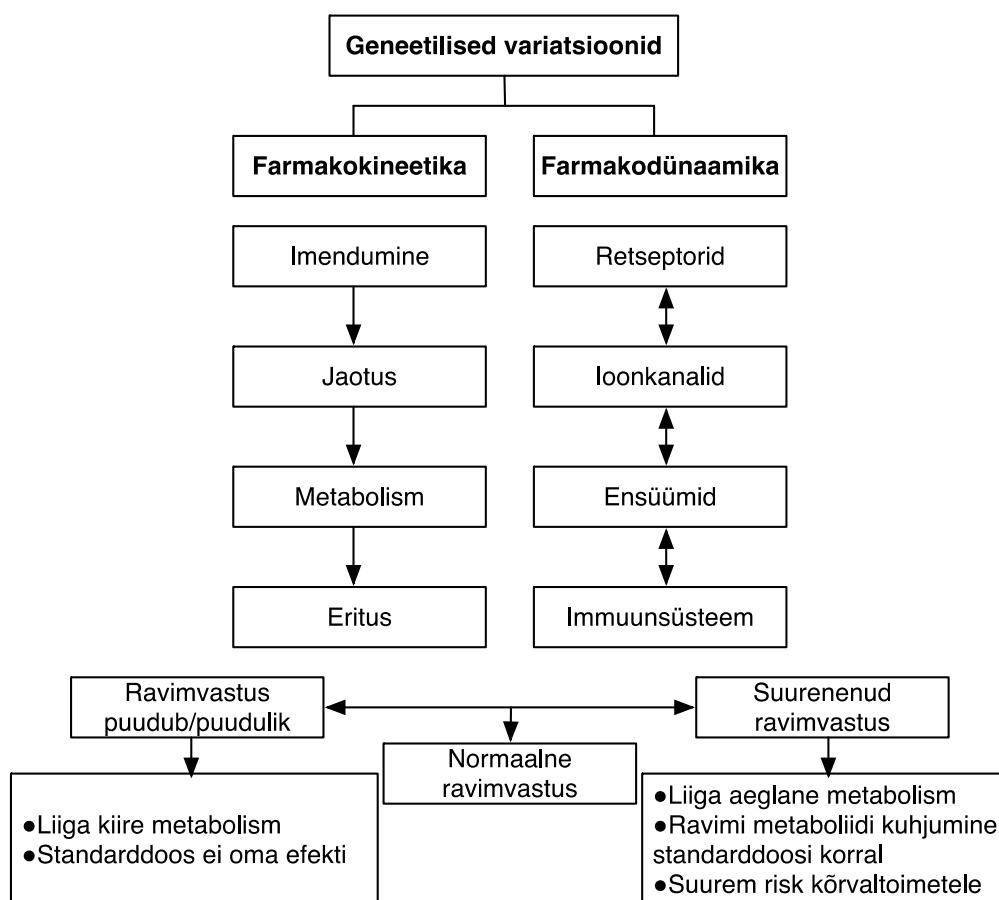
Mõjurid	Ravimefekt
Geneetilised	
Terapeutilised sihtmärgid	Ravimi efektiivsus (farmakodünaamika)
Ravimeid metaboliseerivad ensüümid	Ravimi metabolism (farmakokineetika)
Ravimi transporterid	Ravimi transport organismis (farmakokineetika)
Kõrvanähtudega seotud sihtmärgid	Ravimi toksilisus (farmakodünaamika ja farmakokineetika)
Kaudsete efektidega seotud	Ravimi efektiivsus, farmakokineetika, ravimi toksilisus
Keskkondlikud	
Kemikaalid, koos manustatavad ravimid, suitsetamine, alkoholi tarbimine, dieedi eripärad	Ravimi efektiivsus, farmakokineetika, ravimi toksilisus
Füsioloogilised	
Vanus, sugu, tervislik seisund, rasedus, sportlikkus	Ravimi efektiivsus, farmakokineetika, ravimi toksilisus

Farmakogeneetika keskendub geneetiliste analüüside põhjal erinevate geneetiliste mõjurite väljaselgitamisele ning nende rakendamisele kliinilises praktikas. Hinnanguliselt mõjutavad geneetilised faktorid 20 – 95% individuaalsest ravimvastuse varieeruvusest, sõltuvalt ravimi klassist (Kalow jt., 1998).

Farmakogeneetika on arenenud käsikäes geneetilise analüüsi jõulise arenguga. Kuigi mõiste võeti kasutusele juba 1960ndate lõpus (Vogel, 1959), on väga kiire areng toimunud viimaste kümnendite jooksul genotüpiseerimise ja sekveneerimise abil. Andemete hulga suurenemisega on välja kujunenud uus valdkondlik mõiste – farmakogenoomika. Kui farmakogeneetika keskendub eelkõige ühe geeni põhisele variatsioonile, siis farmakogenoomika tuvastab ravimvastuse mõju kasutades terve genoomi andmeid (Ma ja Lu, 2011).

1.1.1 Geneetilised variatsioonid

Farmakogeneetilised variatsioonid (Joonis 1) võivad mõjutada ravimvastust läbi farmakokineetika või farmakodünaamika. Farmakokineetika kirjeldab ravimi teekonda läbi organismi alates imendumisest kuni organismist väljutamiseni. Farmakodünaamika käsitleb ravimi mõju organismile (Ross jt., 2012).



Joonis 1. Farmakogeneetilised variatsioonid (aluseks Ahmed jt., 2016)

Ravimvastuse varieeruvuse spektri moodustavad täielikult puuduv, osaliselt puudulik, normaalne või suurenenud ravimvastus. Puuduva või puuduliku ravimvastuse korral ei oma standardannus soovitud efekti. Selle põhjuseks võib olla ravimit metaboliseerivate ensüümide liigne aktiivsus ja kiirenenud metabolism. Suurenenud ravimvastuse põhjustab

seevastu standardannuse korral metaboliidi kuhjumine normaalsest aeglasema metabolismi tõttu. See omakorda loob suurema riski kõrvaltoimete tekkele (Wilkinson, 2005).

Lisaks on ravimvastuse kujunemisel ravimi sihtmärkvalke kodeerivate geenide polümorfismidel otsene mõju sihtmärkvalgu aktiivsusele ja/või ravimi ning sihtmärgi omavahelisele interaktsioonile. Polümorfismi(de) paiknemine geeni kodeerivas alas võib otseselt muuta sihtmärkvalgu aktiivsust või struktuuri, variatsioon(id) geeni regulatoorses osas mõjutavad sünteesitava valgu kogust (Ma ja Lu, 2011).

Peale sihtmärkide ja toimeaineid metaboliseerivate ensüümide mõjutavad organismi vastust ravimile ka vastavate toimeainete transportvalgud. Membraani transportvalkude funktsioon on mikro- ja makromolekulide transport nii rakku sisse kui ka välja, mis mõjutab raviainete imendumist, nende levikut organismis ja väljutamist nii raku, koe kui ka organismi tasandil. Ravimite toimeainete transporterid paiknevad organismis erinevate rakutüüpide membraanidel ning jagunevad kahte ülempererekonda – ATP-d siduva domeeni (*ATP-binding cassette*, ABC) ja SLC (*solute carrier*) perekonda (Ahmed jt., 2016).

ABC transportvalgud liigutavad ATP energia abil substraati kontsentratsioonigradiendi vastu. Inimese ABC transportvalkude ülempererekonda kuulub 49 valke kodeerivat geeni (Vasiliou jt., 2009). SLC transportvalkude ülempererekond kodeeritakse rohkem kui 360 geeni poolt ning nende hulgas on nii passiivsed kui ka aktiivsed ehkioon-vahetusel põhinevaid transportereid (He jt., 2009). Üheks farmakogeneetiliselt oluliseks SLC alamperekonnaks on erinevates epiteeli rakkudes paiknevad orgaanilised aniooni transportivad polüpeptiidid (OATP, *organic anion-transporting polypeptide*), mille hulka kuulub ka *SLCO1B1* (Franke jt., 2010). *SLCO1B1* geenis on tuvastatud mitmeid variatsioone, mis mõjutavad transporteri efektiivsust. Üheks tuvastatud geeni polümorfismiks on rs4149056, mis on seotud vereplasma suurenenud statiinide kontsentratsiooniga ning seeläbi kõrgeenenud kõrvaltoimete riskiga (Brunham jt., 2012).

1.1.1.1 Ravimeid metaboliseerivad ensüümid

Ravimite manustamine põhjustab organismis erinevaid reaktsioone, suunates rakud diferentseeruma, jagunema ja/või surema. Ravimi metabolismi, biotransformatsiooni ja/või detoksifikatsiooni eest vastutavad põhiliselt ravimeid metaboliseerivad ensüümid (Rushmore ja Kong, 2002).

Indiviidid jaotatakse vastavalt ravimit metaboliseeriva ensüümi aktiivsusele mitmesse rühma. Aktiivse ravimi manustamisel on kõrvaltoimete tekkimiseks suurim risk aeglastel metaboliseerijatel (*poor metabolizer*, PM), kellel on ensüümi aktiivsus vähenenud või hoopis puudub. Enamasti kannavad PM indiviidid kahte variantset alleeli. Nendel indiviididel tuleks vähendada ravimi annust, et vältida toksifikatsiooni. Heterosügootse genotüübiga indiviidid, kellel üks alleel on normaalne ning teine on variantne, on vahepealsed metaboliseerijad (*intermediate metabolizer*, IM). Normaalse fenotüübi kandjad on kiired metaboliseerijad (*extensive metabolizer*, EM), kellel on metaboliseerivat ensüümi kodeeriva geeni mõlemad alleelid metsikut tüüpi (*wild-type*). Kiiretele metaboliseerijatele peaks sobima ravimi standardannus, kuna ensüümi aktiivsus on normaalne. Lisaks klassifitseeritakse eraldi väga kiirelt ravimit metaboliseerivad indiviidid (*ultra-rapid metabolizer*, UM), kellel seetõttu vastus ravimile on ebaefektiivne. UM indiviidide puhul tuleb arvestada, et ravimi inaktiveerimine toimub normaalsest kiiremini ning efektiivse ravi saavutamiseks on vajalik ravimi annuse tõstmine (Kirchheiner ja Seeringer 2007; Zhou jt., 2008).

Vastupidise efekti võib põhjustada inaktiivse eelravimi manustamine – UM fenotüübiga indiviididel tekib rohkem ravimi aktiivseid metaboliite ning kõrvalnähtude kaasnemine on suurenenud riskiga. Aeglastel metaboliseerijatel (PM ja IM kandjatel) võib toimuda eelravimi aktiveerimine sedavõrd aeglaselt, et raviefekt on puudulik (American Medical Association, 2011).

Metaboliseerivaid ensüüme jagatakse kahte rühma: faas I ja faas II ensüümid. Faas I ravimeid metaboliseerivate ensüümide hulka kuuluvad põhiliselt tsütokroom P450 (*cytochrome P450*, CYP) perekonna ensüümid, millest olulisimad perekonnad on CYP1, CYP2 ja CYP3 (Gardiner ja Begg, 2006). Lisaks kuuluvad faas I metaboliseerijate hulka väiksemad ensüümirühmad, näiteks alkoholdehüdrogenaasid, aldehüüddehüdrogenaasid, esteraasid. Need ensüümid muudavad ravimid organismi jõudmisel aktiivseteks metaboliitideks, modifitseerides kemikaalide funktsionaalseid rühmi, põhiliselt oksüdatsiooni teel. Samas võivad faas I ensüümidel olla ka inaktiveerivad omadused (Evans ja Relling, 1999).

CYP perekonda kuuluvad heemi sisaldavad ensüümid, mis osalevad erineva struktuuriga molekulide oksüdatiivses metabolismis. Mitmed CYP ensüüme kodeerivad geenid on väga polümorfed, ainuüksi 22.kromosoomil paiknevas *CYP2D6* geenis on tuvastatud üle 100 variantse alleeli (Ahmed jt., 2016). *CYP2D6* osaleb aktiivselt 20-25% kõigist kliiniliselt kasutatavate ravimite metaboliseerimisel (Ingelman-Sundberg, 2005). Sama ravimi

kontsentratsiooni saavutamiseks vereplasmas, tuleb erinevaid allelele kandvatel indiviididele manustada ravimit kuni kümnekordselt erineva annusega (Kirchheiner jt., 2004).

Teiste seas on *CYP2D6* geenis polümorfism rs3892097 (alleel *CYP2D6*4*). Alleeli kandjad on PM fenotüübiga (Sistonen jt., 2007), kellel ensüüm on inaktiivne, mis põhjustab standardannuse manustamisel kõrget ravimi kontsentratsiooni vereplasmas ning samuti kõrge riski kõrvaltoimete tekkimisele (Weinshilboum, 2003).

Teine väga polümorfne CYP perekonna ensüüm on *CYP2C9*, seni on tuvastatud rohkem kui 60 erinevat alleeli, millest mitmed vähendavad või suurendavad ensüümi aktiivsust¹. Sarnaselt *CYP2D6*-ga metaboliseerib *CYP2C9* umbes 25% kõigist kliiniliselt kasutatavatest ravimitest, nende seas ka laialdaselt antikoagulandina kasutusel olevat varfariini (Yasmeen jt., 2015). Varfariini individuaalselt mittersobiva annuse korral on patsiendil kõrge risk verejooksude tekkimiseks, mis võivad olla fataalse lõpuga (Fitzmaurice jt., 2002).

CYP2C19 ensüümi kodeeriva geeni variatsioone on tuvastatud mitmeid, kokku üle 35 registreeritud alleelse variatsiooni ning üle 2000 ühenukleotiidsed polümorfismi (*single nucleotide polymorphism*, SNP). Uutest uuringutest lisandub SNP-e pidevalt juurde, seega täieneb andmestik jooksvalt². Kõige levinumad variantsed alleelid on *CYP2C19*2* ja *CYP2C19*3*, mis mõjuvad ensüümi aktiivsusele negatiivselt ning nende kandjad liigitatakse PM rühma. Kõige levinum variant *CYP2C19*2* alleelis on rs4244285, mis on ühenukleotiidsed vahetus (G > A) viiendas eksonis, põhjustades ebanormaalse splaissingu saidi (de Morais jt., 1994). Käesolevas töös on välja toodud nii rs4244285 seos klopidoogreeli nimelise ravimiga kui ka teise *CYP2C19* alleeli *17 ühe variatsiooniga (rs12248560). Variatsioonid on seotud PM ja IM fenotüüpidega ning variantide kandjatel on ravimi manustamisel suurenenud risk müokardi infarkti, insuldi ja tromboosi tekkeks. Lisaks on *CYP2C19*17* kandjatel suurenenud risk veritsusele (Tiroch jt., 2010; Sibbing jt., 2010; Kubica jt., 2011).

Faas II ensüümid osalevad ravimite detoksifikatsioonis, et neid lihtsamini organismist väljutada, lisades ravimi aktiivsetele vormidele erinevaid keemilisi rühmi. Faas II ensüümide suurimad rühmad on UDP-glükuronosüültransferaasid, sulfotransferaasid, N-atsetüültransferaasid, glutatiooni S-transferaasid ja mitmed metüültransferaasid (Jancova jt., 2010).

¹ <http://www.cypalleles.ki.se/cyp2c9.htm>

² <http://www.cypalleles.ki.se/cyp2c19.htm>

1.1.2 Andmebaasid

Farmakogeneetika, -genoomika ja personaalmeditsiini valdkondade edendamise eesmärgil on loodud mitmeid andmebaase, mis sisaldavad olulist informatsiooni ravimvastust mõjutavate geenide varieeruvuse kohta ning nende seoseid tõhususe ja kõrvaltoimetega. Andmete juurdevool on tänu genotüpiseerimiskiiptide ning järgmise põlvkonna sekveneerimismeetodite arengutele olnud järjest kiirenev. Andmebaaside eesmärgiks on ajakohase informatsiooni talletamine ning erinevatele huvipooltele kättesaadavaks tegemine. Neis sisalduvad andmed võivad olla personaalmeditsiini väljakutsete lahendamiseks kasulikud nii teadlastele, arstidele, ametnikele kui ka ravimitööstusele (Sim jt., 2011).

Mitmed andmebaasid on keskendunud spetsiifilisele ja kitsale valdkonnale, näiteks Inimese CYP alleelide nomenklatuur (*Human Cytochrome P450 Allele Nomenclature*) sisaldab pidevalt uuendatavaid teadaolevate CYP perekonna ensüüme kodeerivate geenide variatsioone (Sim ja Ingelman-Sundberg, 2010). Neil on ka vaba ligipääsuga veebilehekülj³, kus on välja toodud geneetilised variatsioonid koos teadaoleva kliinilise ja molekulaarse mõjuga.

Drugbank⁴ (Ravimipank) koondab ravimite ja toidu vaheliste interaktsioonide mõju ning metabolismiradade ja metaboolsete ensüümidega seotud reaktsioonide andmed. Andmestik sisaldab rohkem kui 8000 ravimit, millest igaühe kohta on kättesaadav mitmesugune detailne informatsioon ravimi interaktsioonide, farmakoloogia ning omaduste kohta (Law jt., 2014).

Farmakogenoomika Mutatsioonide andmebaas (*Pharmacogenomics Mutation Database*, PGMD) on ülevaatlik farmakogeneetika andmebaas, mille andmed pärinevad ekspertide poolt kontrollitud kirjandusest ning FDA (Ameerika Toidu- ja Raviamet) ja EMA (Euroopa Raviamet) poolt avaldatud ravimiinfost. 2016.aasta suve seisuga sisaldab PGMD üle 139 000 farmakogeneetilise sissekande⁵. Ligipääs andmestikule on piiratud, akadeemilistele institutsionaalsetele kasutajatele võimaldatakse seda tasuta, ülejäänutele tasuline (Kaplun jt., 2016).

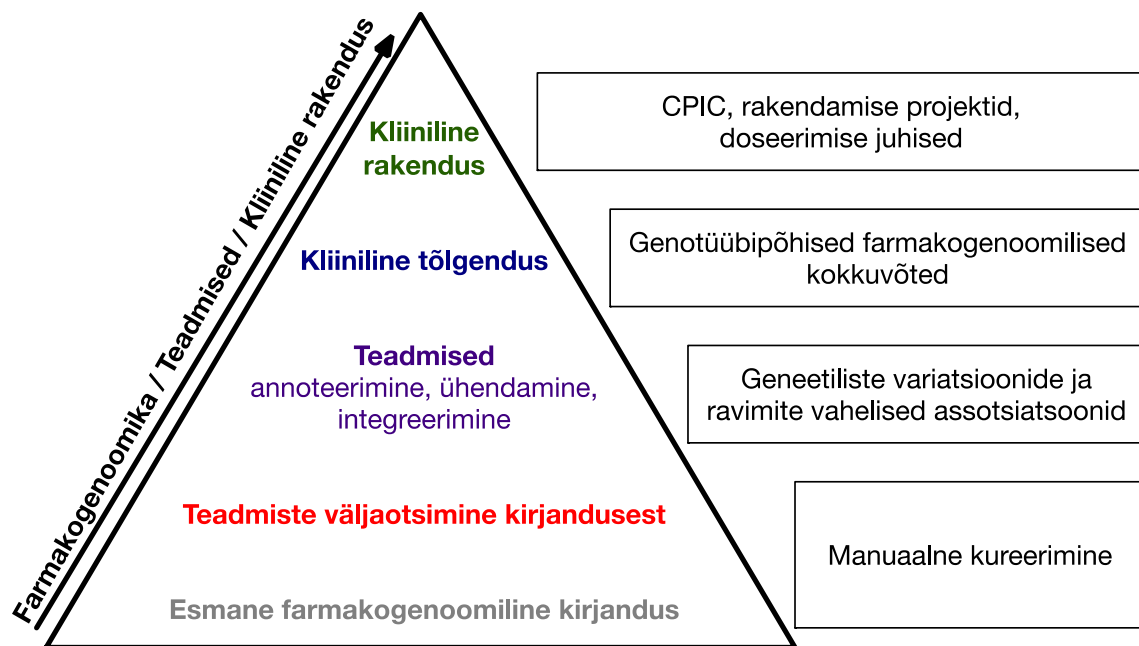
³ <http://www.cypalleles.ki.se>

⁴ <https://www.drugbank.ca>

⁵ <https://portal.biobase-international.com/archive/documents/pgmdstats.pdf>

1.1.2.1 PharmGKB

PharmGKB (Farmakogenoomika Teadmiste andmebaas, *Pharmacogenomics Knowledgebase*) sai alguse 2000.aastal, kui nähti vajadust luua kvaliteetne ja laia ligipääsuga baas kasvavale farmakogeneetilistele teadmistele. Farmakogeneetika andmebaasist kasvas lähiaastate jooksul laiahaardeline fenotüübipõhine farmakogenoomika andmebaas. PharmGKB aluseks on asjakohane erialane kirjandus, mis kureeritakse käsitsi (Thorn jt., 2010).



Joonis 2. PharmGKB teadmiste püramiid visualiseerimaks andmete hierarhiat ning omavahelist integratsiooni (aluseks Whirl-Carrillo jt., 2012).

CPIC - Kliinilise Farmakogeneetika Rakendamise Konsortsium

PharmGKB tegevus jaguneb lisaks kirjandusest vajaliku informatsiooni ammutamisele kolme põhilise suuna vahel (Joonis 2):

- geenide-ravimite-haiguste vaheliste seoste välja toomine, ravimvastuse jaoks eriti tähtsate farmakogeenide (*very important pharmacogene*, VIP) kohta kokkuvõtete koostamine, ravimipõhiste farmakokineetika ja farmakodünaamika radade

kirjeldamine ning olemasolevate andmete täiendamine ja nendega integreerimine;

- kogutud andmete kliiniline tõlgendamine, mis hõlmab endas ravimi ja iga geneetilise variatsiooni seose ülevaadet. Koostatakse kliiniline annotatsioon standardiseeritud formaadis, mis tehakse arusaadavaks nii teadlaste kui ka praktiseerivate arstide jaoks;
- andmete rakendamine kliinilises praktikas – CPIC poolt väljatöötatavad farmakogeneetilised juhised, näiteks vastavad FDA ravimi etiketid, mis omavad genotüüp põhiseid hoiatusi või doseerimisjuhiseid (Whirl-Carrillo jt., 2012).

Igale kliinilisele annotatsioonile lisatakse “kindluse määr” (“*level of evidence*”) hinnang, mis väljendab PharmGKB kuraatorite hinnangul assotsiatsiooni usaldusväärsust. Hinnang kujuneb erinevate parameetrite põhjal, võttes arvesse assotsiatsiooni replitseeritavust, p-väärtust ja efekti suurust. Kokku on hinnangul neli taset, millest esimesel kahel on omakorda kaks alatüüpi – A ja B (tabel 2).

Tabel 2. Kliiniliste annotatsioonide “*level of evidence*” määramise kriteeriumid (aluseks Whirl-Carrillo jt., 2012).

Hinnang	Kriteeriumid
1A	Hästi tõendatud ravim-genotüüp seosed, mis on replitseeritud vähemalt ühes kohordis, olulise p-väärtusega ning soovituslikult suure efektiga. Kliiniline rakendus – farmakogeneetiline juhis on olemas või väljatöötamisel.
1B	Samad tingimused kui 1A, kuid ilma kliinilise rakendusega.
2A	Mõõdukalt tõendatud ravim-genotüüp seosed, mis on replitseeritud vähemalt ühes kohordis, kuid võivad sisaldada ka negatiivseid tulemusi. Hõlmavad PharmGKB poolt eriti hästi dokumenteeritud VIP-ide variatsioone.
2B	Samad tingimused kui 2A, kuid ei kuulu VIP variatsioonide alla.
3	Põhineb ühel olulisel seosel, kuid seni replitseerimata, pole ühist kindlat tõendust.
4	Annotatsioon on üksiku juhtumi põhine või on tegu ebaolulise uuringuga, mis põhineb näiteks <i>in vitro</i> või molekulaarsel analüüsil.

Annotatsioonidele hinnangu määramine loob loogilise süsteemi, mille põhjal on lihtne eristada olulisi ja usaldusväärseid seoseid teistest.

1.1.3. Kliiniline rakendus

Farmakogeneetilisi teadmisi oldi eelmise kümnendi lõpuks kogutud omajagu, kuid nende kasutamine kliinilises praktikas oli väga vähe levinud. Olukorra muutmiseks pandi 2009.aastal alus Kliinilise Farmakogeneetika Rakendamise Konsortsiumile (*Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium*, CPIC), mille eesmärgiks sai väga spetsiifiliste juhiste loomine arstidele ja laboritele, et farmakogeneetilisi teste oleks võimalik tõhusalt ja targalt kliinilises praktikas kasutada (Relling ja Klein, 2011).

Praeguseks leiab FDA geneetilise testimise soovitusi, paljuski tänu CPIC-le, rohkem kui 200 ravimi infolehel⁶. FDA on lisanud juhiseid nii uutele ravimitele, kui ka vanadele ja pikalt kasutusel olnud ravimitele (Johnson, 2013). Juhised lähtuvad genotüübi-ravimi vahelisest seosest ning annavad soovitusi alternatiivse ravimi kasutamiseks või annuse korrigeerimiseks (Sven jt., 2011). Üheks heaks näiteks on abakaviiri ravi alustamise eel *HLA-B*5701* alleeli määramine, et ära hoida ülitundlikkuse reaktsioon. Tänu tugevale soovitusel nii CPIC-i, Ameerika Ühendriikide Tervishoiuministeeriumi kui ka HIV konsensususe paneelide poolt, on genotüpiseerimisest saanud ravieelne tüüpanalüüs⁷ (Thompson jt., 2012; Gazzard, 2008). Hoolimata sellest, et juhised on olemas ka paljudel teistel ravimitel, pole nende implementeerimine toimunud sedavõrd edukalt kui *HLA-B*5701*-ga. Loomulikult pole tegemist ainsa rakendusega, kuid enamasti pole geneetika integreerimine kliinilisse praktikasse sedavõrd edukalt toimunud (Shuldiner jt., 2013; Luzum jt., 2017).

Takistusi, mis pidurdavad farmakogeneetiliste testide rakendamise arengut tänapäevases meditsiinis, on mitmeid, millele tähelepanu pöörata:

- testimisega seotud barjäärid – kliinilistele tingimustele vastavate pädevate laborite ja farmakogeneetiliste testide olemasolu; sobivale patsiendile testi

⁶ <https://www.fda.gov/Drugs/ScienceResearch/ResearchAreas/Pharmacogenetics/ucm083378.htm>

⁷ <https://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/adultandadolescentgl.pdf>

tellimise meeles pidamine; testi vastuste kättesaamiseks kuluv aeg; testi maksumus ja selle hüvitamine patsiendile;

- teadmistega seotud barjäärid – eelkõige peetakse silmas praktiseerivate arstide väheseid teadmisi farmakogeneetika valdkonnast; ebakindel hoiak, kuidas testi tulemusi interpreteerida; ebakindlus testi põhjal raviplaan koostada; ühiskonna ja patsiendi enda teadmatuse ning skeptiline suhtumine;
- testi tulemustega seotud barjäärid – tulemuste integreerimine elektrooniliste terviseandmetega (Johnson, 2013; Luzum jt., 2017).

Mitmetele probleemidele on potentsiaalsed lahendused olemas. Testimisega seotud barjäärid likvideeriks suuremas osas ennetav genotüpiseerimine. See tähendab, et patsiendi geneetiline profiil on kas SNP-ide genotüpiseerimisel kiibianalüüsi meetodil või genoomi sekveneerimise teel välja selgitatud. Kogu geneetiline informatsioon integreeritaks ravi käigus kasutamiseks patsiendi terviseandmetega. Kui profiil on loodud, saab andmeid kasutada kogu elu ning puudub vajadus erinevate testide tegemiseks erinevate ravimite puhul (Johnson, 2013).

Farmakogeneetiline testimine ja laiem kasutus personaalmeditsiinis juurdub küll aeglaselt, kuid suund on paigas. Mitmes USA juhtivas haiglas katsetatakse ennetava farmakogeneetilise testimise rakendamist ning edusammude korral võib sellest saada tavapärane osa meditsiinist (Drew, 2016). Lisaks ravi ohutuse ja efektiivsuse tõstmisele, on leitud, et farmakogenoomika rakendamine võimaldab suures plaanis kärpida ravikulusid (Berm jt., 2016).

1.2. Assotsiatsioonianalüüsid

Inimese genoomi uurimisega on tegeletud juba kümneid aastaid. 1990. aastatel sai alguse Inimese Genoomi Projekt (*Human Genome Project*, HGP), mis 2003.aastaks jõudis lõpule kogu inimese genoomi sekveneerimisega. Tulemustest selgus, et inimeste DNA järjestused on 99,5% ulatuses identsed (Pettersson jt., 2009). Seega inimestevaheline erinevus defineeritakse vaid väikese osa indiviiditi varieeruva DNA põhjal, alates välimusest kuni geneetilist eelsoodumust omavate haiguste arengu ja nende avaldumiseni. Haiguste geneetilise tausta väljaselgitamiseks kasutatakse sageli juht-kontroll uuringut, kus võrreldakse kindlat fenotüüpi omavate ehk üldjuhul haigete ja kontrollgrupi ehk tervete

indiviidide DNA järjestusi (Zondervan ja Cardon, 2007). Sellist tüüpi analüüse teostatakse ka ravimi, geenide ja ravimi kõrvaltoimete vaheliste seoste tuvastamiseks (Daly, 2010).

1.2.1 Ülegenoomne assotsiatsiooniuuring

Üheks analüüsimeetodiks, mis kasutab juht-kontroll tüüpi uuringu ülesehitust, on ülegenoomne assotsiatsiooniuuring (*Genome-Wide Association Study*, GWAS). GWAS-i meetodika põhineb eeldusel, et teatud geneetiliste markerite alternatiivsete alleelide sagedus on juhtude hulgas suurem kui kontrollidel, mis viitab vastavate markerite seosele uuritava fenotüübiga (Kruglyak, 1999). GWAS kasutab geneetiliste markeritena tavaliselt SNP-e, mis moodustavad üle 90% indiviididevahelisest geneetilisest varieeruvusest (Brookes, 1999). GWAS-id sobivad kasutamiseks ka farmakogenoomika valdkonnas, sest erinevalt mendeliaalsetest tunnustest, mida mõjutavad mutatsioonid ühes geenis, on ravimvastuse varieeruvuse põhjused kompleksed, mis kujunevad erinevate geenide ja nende polümorfismide koosmõjul (Manolio, 2010).

Markerite tuvastamine toimub DNA mikrokiipide abil, millega on võimalik korraga testida rohkem kui miljonit SNP-i (Pearson ja Manolio, 2008). Mikrokiibid ei suuda katta kõiki SNP-e ning selle korvamiseks ennustatakse genotüpiseeritavate SNP-ide põhjal aheldustasakaalutuse (*linkage disequilibrium*, LD) abil ülejäänud. LD kaudu genotüüpide ennustamine on imputeerimine, mis võimaldab kindla genoomi piirkonna või kogu genoomi kohta saada lisainformatsiooni. Imputatsioon suurendab uuringu statistilist võimsust, mis võimaldab leida rohkem assotsiatsioone (Spencer jt., 2009).

Imputatsioonil kasutatakse SNP-ide ennustamiseks referentshaplotüüpe, mis pärinevad enamasti HapMap2 või 1000 Genoomi projekti referentspaneelidest. Kasutatakse ka populatsioonipõhiseid referentspaneele, mis võimaldavad usaldusväärsemalt markereid imputeerida ning täpsemini ennustada harvasid variante (Mitt jt., 2017). Usaldusväärsuse hindamiseks arvutatakse imputeeritavatele markeritele korrelatsioonikordaja (r^2), mis väljendab tõenäosust, et SNP on korrektselt ennustatud. Korrelatsioonikordaja väärtuse piirmäära võib uuringu teostaja ise valida, kuid tavaliselt ei võeta sisse $r^2 < 0.80$ hinnanguga markereid (Pe'er jt., 2006).

GWAS koosneb tavapäraselt järgnevatest etappidest:

- 1) uuringusse kaasatavate indiviidide valimine – ravimi kõrvaltoimetega seotud markerite tuvastamise näide: juhtude hulka määratakse individid, kellele ravimi manustamine põhjustab kõrvalnähte, ning kontrollide hulka ravimeid komplikatsioonideta tarbivad individid;
- 2) genotüpiseerimine – kiibianalüüs geneetiliste markerite tuvastamiseks, ülejäänud markerite imputeerimine;
- 3) statistiline analüüs – arvutuspõhine meetod seoste tuvastamiseks uuritava fenotüübi ja geneetiliste markerite vahel;
- 4) replikatsioon – tulemuste kontroll teises uuringurühmas (McCarthy jt., 2008).

Farmakogenoomiliste GWAS-ide teostamisel on mõningad kitsaskohad võrreldes tavapärase uuringuga:

- uuringusse kaasatavate indiviidide arv – mida rohkem indiviide uuringusse kaasatakse, seda suurem on GWAS-i statistiline võimsus. Farmakogeneetilistesse uuringutesse on keerulisem saada just vajalikku juhtude arvu, mis võimaldaks tuvastada väikese või keskmise efektsuurusega assotsiatsioone. Heaks näiteks on tõsiste kõrvalnähtude uurimine, mis võib esineda küllaltki vähestel ravimi manustajatel, mõjutades kuni ühte patsienti sajast tuhandest.
- fenotüübi määramine – kompleksed interaktsioonid seoses ravimvastuse ja haigusega. Ravimi kõrvaltoimete puhul oluline aspekt – osadel patsientidel on ebatäielik terviseandmestik, kõik ravimi manustamisel tekkinud kõrvaltoimed pole dokumenteeritud (Hui jt., 2016).
- replitseerimise keerukus – tulemuste korratavus on oluline osa GWAS-ist, mis kinnitab tulemusi ning tõstab uuringu usaldusväärsust. Kuna farmakogenoomilistes uuringutes on niigi probleeme valimi suurusega, on replitseerimine veelgi keerulisem (Daly, 2010).

GWAS-i analüüsides tuvastatud assotsiatsioonide efekti suurust fenotüübile hinnatakse šansside suhte (*odds ratio*, OR) abil. OR väärtus 1 väljendab efekti neutraalsust ehk OR = 1 puhul vastaval seosel puudub mõju fenotüübile. OR < 1 väljendab negatiivset efekti vastava

assotsiatsiooni ning uuritava fenotüübi vahel. $OR > 1$ tähendab, et konkreetne geneetiline variatsioon avaldab suuremat mõju fenotübile (Szumilas, 2010).

Tihti avaldatakse ka OR usaldusvahemik (*confidence intervall*, CI), tavaliselt 95% usaldusvahemik, mis hindab raporteeritud OR-i täpsust. Mida väiksem on usaldusvahemik, seda täpsem on antud hinnang. 95% usaldusvahemik katab 95% tõenäosusega tulemuse väärtuse populatsioonis (Szumilas, 2010).

GWAS-i disainimisel tuleb arvestada, et andmestikus võib esineda sisemine struktuur ning valepositiivsete tulemuste vältimiseks tuleb statistilist testi vastavalt kohandada. Populatsiooni stratifikatsioon on põlvnemise erinevusest põhjustatud erinevad alleelisageduste jaotused juhtude ja kontrollide vahel. Stratifikatsiooni vastu kohandamiseks kasutatakse peakomponentanalüüsi (*principal component analysis*, PCA). PCA tekitab omavahel mittekorreleeruvad uued tunnused ehk peakomponendid. Esimene peakomponent kirjeldab varieeruvusest suurima osa ning iga järgmine järjest väiksema osa. Peakomponendid on üksteise suhtes ortogonaalsed, mis tagab nende tunnuste omavahelise korreleerumise puudumise (Price jt., 2006).

Lisaks PCA-le kasutatakse GWAS-i analüüsis valimi struktuursete komponentide mõju vähendamiseks kovariaatidena erinevaid tunnuseid, et vältida valepositiivseid seoseid ning suurendada analüüsi statistilist võimsust. Kovariaatidena on sageli kasutusel vanus ja sugu (Aschard jt., 2015).

1.2.2 Metaanalüüs

Üksikud GWAS-id on sageli madala võimsusega, mis võimaldab tuvastada ainult sagedasemaid variante ning suurema efektiga geneetilisi markereid (Altshuler ja Daly, 2007). Metaanalüüsi koondatakse mitmete uuringute andmed, mille põhjal on võimalik tuvastada uusi fenotüübiga seotud geneetilisi markereid, mis üksikutes analüüsides jääksid tuvastamata (Evangelou ja Ioannidis, 2013). Samuti saab metaanalüüsi kasutada uuringutele süstemaatilise koondhinnangu andmiseks, koondades ühesugused fenotüüp-variant seoseid raporteerivad uuringud. Metaanalüüsi peamiseks eesmärgiks on suurema valimi abil tõsta analüüsi statistilist võimsust ning suurendada tulemuste täpsust (Akobeng, 2005).

Kui metaanalüüsi eesmärgiks on uuringutele koondhinnangu andmine, tuleb iga eraldiseisva uuringu kohta teada vastava seose efekti suurust (näiteks šansside suhtena) ning antud

väärtuse usaldusvahemikke. Parameetrite väärtuste põhjal arvutatakse uuringute kaalutud koondhinnang, mis arvestab iga üksiku uuringu suurust (Akobeng, 2005). Erinevate uuringute vahelise heterogeensusega arvestamiseks kasutatakse koondhinnangu leidmisel juhuslike mõjude mudelit (*random effects model*) (Ioannidis jt., 2007). Vastava metaanalüüsi tulemusi visualiseeritakse tavaliselt *forest plot*-i joonisel, mis kujutab üksikute uuringute efekti suurusi koos usaldusvahemikega ning ennustatavat analüüsi koondhinnangut (Lewis ja Clarke, 2001).

1.2.3 Fenotüübiandmed

1.2.3.1 Rahvusvaheline haiguste klassifikatsioon (ICD)

Meditiinis on kasutusel arstidele suunatud universaalne süsteem, mis võimaldab liigitada erinevaid haigustega ja vigastustega seotud tundemärke, sümptomeid, erakordseid leide ja kaebuseid (Meyer, 2011). Haiguste klassifitseerimine sai alguse prantsuse arsti Francois Bossier de Lacroix'd ettevõtmisest juba 1763.aastal, kui ta liigitas 2400 haigust kümnest erinevasse suurest rühmast koosnevasse süsteemi (Knibbs, 1929; Jetté jt., 2010). Tänapäeval on kasutusel siiski sajandi võrra hiljem alustatud projektist välja arenenud rahvusvaheline haiguste ja tervisega seotud probleemide statistiline klassifikatsioon (*International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems*, ICD). 1893.aastal ilmus surmade põhjuseid kokkuvõttev esimene verisoon. Alles 1949.aastal, kui WHO (Maailma Terviseorganisatsioon) võttis süsteemi haldamise enda peale, lisati nimekirja ka haigused⁸. Praeguseks on umbes 110 riigis kasutuses ICD-10 (*ICD Tenth Revision*, kümnes väljaanne) klassifikatsioon, mis valmis 1992.aastaks. Süsteemis on võimalik kasutada rohkem kui 155 000 koodi erinevate diagnooside ja terviseprobleemide registreerimiseks. Klassifikatsioon võimaldab WHO-l koondada rahvusvahelist statistikat haigestumiste ja surma põhjuste kohta (Doughy jt., 2011).

ICD-10 koodil on kindel struktuur. Esimesed kolm tähemärki kirjeldavad tunnust laiemalt ning iga järgmine järjest spetsiifilisemalt, kokku võib kood sisaldada kuni seitse tähemärki (Grider ja American Medical Association, 2010). Kokkuvõttes jaguneb süsteem 21 peatükiks, mille nimetused on välja toodud lisas (Lisa 2).

⁸ <http://www.who.int/classifications/icd/en/HistoryOfICD.pdf>

ICD-10 kood kasutatakse ka Eesti meditsiinisüsteemis⁹. Arstid märgivad patsiendi andmed Haigekassa elektroonilisse andmebaasi, mille kaudu on kättesaadav kogu patsiendi kliiniline ajalugu. Antud andmebaasi saab edukalt kasutada assotsiatsioonianalüüsi jaoks andmete kogumisel. Spetsiifilised ICD-10 koodid sobivad assotsiatsioonianalüüsi fenotüüpideks.

1.2.3.2 Ravimite klassifikatsioon (ATC)

Sarnaselt haiguste klassifikatsioonile haldab WHO ka ravimite toimeainepõhist süsteemi, mille nimetus on anatoomilis-terapeutiline keemiline (*Anatomical Therapeutic Chemical*, ATC) klassifikatsioon. ATC koodide süsteemi kasutati esmakordselt 1976.aastal ning praeguseks on see rahvusvaheliselt kasutusel üle maailma¹⁰.

Ravimi toimeained jaotatakse erinevatesse rühmadesse vastavalt organile või süsteemile, millele nad mõju avaldavad, ning terapeutiliste, farmakoloogiliste ja keemiliste omaduste järgi. ATC kood on seitsme tähemärgi pikkune numbrite ja tähtede kombinatsioon, mis moodustub viiest erinevast tasemest. Esimene tase viitab ühele neljateistkümnest anatoomilisest peagrupid. Teine tase on terapeutilise, kolmas farmakoloogilise ning neljas tase keemilise alagrupi defineerimiseks. Viimasena asub koodi lõpus keemilise toimeaine tähistus numbrilise koodina. Igale erineva terapeutilise mõjuga ravimile ning manustamise viisile vastab unikaalne ATC kood (WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology, 2012).

ATC klassifikatsioon loodi abivahendiks ravimite kasutamise põhiste uuringute tegemiseks ning rahvusvahelise ravimi kasutamise statistika koostamiseks. Selle eesmärgiks on ravi kvaliteedi parandamine ning ohutuse tõstmine (WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology, 2012). Ravimitele vastavad ATC koodid sobivad assotsiatsioonianalüüsides fenotüübi defineerimiseks.

⁹ <https://www.riigiteataja.ee/akt/163343>

¹⁰ https://www.whocc.no/atc_ddd_methodology/history/

2. UURIMUS

2.1 Töö eesmärk

Käesoleva magistritöö eesmärgiks oli PharmGKB andmebaasi 1A ja 1B kindluse määraga ravimi toksilisuse või kõrvaltoimetega seotud ravim-genotüüp assotsiatsioonide replitseerimine Tartu Ülikooli Eesti Geenivaramu kohordis kasutades elektroonilistes terviseandmetes olemasolevaid andmeid.

2.2 Materjalid ja metoodika

2.2.1 Referentsandmestiku koostamine

PharmGKB¹¹ andmebaasist võeti välja kõikide 1A ja 1B kindluse määraga ravim-genotüüp assotsiatsioonid, mis olid seotud ravimi toksilisuse või kõrvaltoimetega. Kokku lisati koostatud referentsandmestikku 500 individuaalset ravim-genotüüp seost, mis jagunesid 27 erineva geneetilise variatsiooni vahel. Andmestik on töö lisana nähtaval veebis¹².

Andmestikku märgiti geenide nimi või SNP-i viite (*Reference SNP*, rs) number, p-väärtus, šansside suhe (OR), OR 95% usaldusvahemik, ravimi nimi, uuringusse kaasatud juhtude arv, kontrollide arv, efektilleel või genotüübi tunnus, referentsalleel ning uuringu tunnus PubMed-i¹³ identifikaatorinumbri näol (*PubMed IDentification number*, PMID).

Andmestiku põhjal koostati assotsiatsioonianalüüsiks vajalik fenotüübifail. Igale andmestikus välja toodud ravimi toimeainele otsiti uuringu kohordist seda tarvitanud indiviidid kasutades Eesti Haigekassa andmebaasist väljastatud retseptide andmeid. Ravimi toimeained on Haigekassa andmebaasis tähistatud anatoomilis-terapeutilise keemilise (ATC) koodiga. Kokku kasutati 46 erinevat ATC koodi, mis koos ravimite nimetustega on välja toodud tabelina lisas (Lisa 1).

¹¹ <https://www.pharmgkb.org/search/clinicalAnnotationList.action?levelOfEvidence=top>

¹² https://www.dropbox.com/s/4u8yfm9s7o0tqf0/MJaama_mag_lisa_tabel_veeb.pdf?dl=0

¹³ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>

Ravimit tarvitanud indiviidide seast määrati uuringu juhtudeks need, kellel olid esinenud ravimi kõrvaltoimed. Patsientide andmed pärinevad Haigekassa haiguslugude andmebaasist. Kõrvaltoime esinemine määrati 79 unikaalse ICD-10 koodi põhjal, mida seostatakse ravimi tarvitamisel tekkivate kõrvaltoimetega (Lisa 3). Lisaks määrati kõrvaltoime esinemine neile ravimit tarvitanud indiviididele, kes olid sellest teatanud geenidoonorite küsimustikus. Indiviidid, kelle haiguslugudes polnud märgitud ühtegi 79-st ICD-10 koodist ega polnud ravimi kõrvaltoimetest geenidoonorite küsimustikus teatanud, määrati kontrollideks. Kõrvaltoimete spetsiifilise ICD-10 koodide nimekirja koostas Tartu Ülikooli Eesti Geenivaramu (TÜ EGV) doktorant Kristi Krebs tuginedes Uppsala Ülikooli Haigla kliinilise farmakoloogia juhiste (isiklik kommunikatsioon).

2.2.2 Valim ja genotüpiseerimine

Käesoleva töö raames teostatud assotsiatsioonianalüüsi läbiviimiseks kasutati TÜ EGV geenidoonorite andmeid. Uuringutes kasutatud indiviidid on allkirjastanud nõusolekuvormi, millega lubavad enda andmete töötlemise ja proovide kasutamise. Uuringu läbiviimiseks on olemas Tartu Ülikooli inimuuringute eetika komitee luba.

Geenidoonorite genotüübiandmed pärinevad ülegenoomselt sekveneeritud DNA andmetest, lisaks genotüpiseerimiskiipidelt Illumina CNV370-Duo, HumanOmniExpress ja Infinium CoreExome-24 (Illumina Inc., San Diego, CA, USA). Täpsem uuringu valimi kirjeldus on tabelis 3. Kokku oli assotsiatsioonianalüüsiks kasutada 16226 indiviidi (vanus 18 – 103 eluaastat) genotüübiandmed.

Tabel 3. Genotüpiseerimisandmete pärinevus erinevatelt platvormidelt.

	Mehed	Naised	Kokku
Ülegenoomselt sekveneeritud DNA andmed	1169	1121	2290
Illumina CNV370-Duo	998	1073	2071
Illumina HumanOmniExpress	2961	3917	6878
Infinium CoreExome-24	1596	3391	4987
Kokku	6724	9502	16226

Ülegenoomselt sekveneeritud DNA andmetest eraldati otseselt vajalike geneetiliste markerite genotüübid. Valimi suurendamiseks täiendati täisgenoomide genotüüpe genotüpiseerimiskiipide indiviidide imputeeritud markeritega. Selleks kasutati TÜ EGV teadlaste koostatud Eesti populatsioonipõhist imputatsiooni referentspaneeli, mille aluseks on 2244 geenidoonori ülegenoomselt sekveneeritud DNA järjestused (Mitt jt., 2017). Imputeerimine teostati programmiga IMPUTE2 (Howie jt., 2009).

2.2.3 Assotsiatsioonianalüüs

PharmGKB andmebaasis raporteeritud ravimi kõrvalmõjude ja markerite omavaheliste seoste replitseerumise testimiseks TÜ EGV ravimitarvitajate kohordis teostati programmiga PLINK 1.9 (Purcell jt., 2007) assotsiatsioonianalüüse. Analüüsid teostati iga referentsandmestikku märgitud ravimi (vastavalt ATC koodile) retsepti realiseerinud indiviidide alamvalimis uurimaks logistilise regressioonmudeli abil ravimi kõrvaltoime esinemise või mitte esinemise sõltuvust PharmGKB andmebaasis varem seostatud geneetiliste markeritega.

Assotsiatsioonianalüüsis kasutati vaid seni tuvastatud olulisi farmakogeneetilisi markereid, mis olid PharmGKB andmebaasi põhjal koostatud referentsandmestikku valitud.

Süsteemsete veakomponentide vältimiseks kaasati analüüsidesse kovariaatidena sugu, vanus, kehamassiindeks, lisaks neli esimest peakomponenti populatsiooni stratifikatsiooni vähendamiseks. Peakomponentanalüüsi väärtused arvutati R tarkvara (R Core Team, 2013) paketi SNPRelate (Zheng jt., 2012).

2.2.3 Metaanalüüs

Referentsandmestiku ja assotsiatsioonianalüüside tulemuste põhjal koostati metaanalüüsid referentsandmete võrdlemiseks TÜ EGV geenidoonorite ravim-genotüüp seostega. Analüüsi teostamiseks kasutati R tarkvara (R Core Team, 2013) paketti *metafor* (Viechtbauer, 2010). *Metafor* paketi funktsioon *forest* kasutas sisendina referentsandmestikku valitud uuringute ravim-genotüüp seoste tulemusi. Metaanalüüsi ei kaasatud uuringuid, mille tulemustes polnud raporteeritud ravim-genotüüpi kirjeldavat šansside suhet (OR) ja usaldusvahemikku. Visuaalseks väljundiks on paketi abil koostatud *forest plot*-i joonis, mis esitab uuringute

individuaalsed tulemused OR ja usaldusvahemiku näol ning uuringute koondtulemuse. Metaanalüüsi koondhinnangu arvutamiseks rakendati juhuslike mõjude mudelit.

2.3 Tulemused

2.3.1 Assotsiatsioonianalüüs

Käesoleva töö raames teostati assotsiatsioonianalüüsid ravimi toimeainete ja ravimi kõrvaltoimete vaheliste seoste tuvastamiseks TÜ EGV geenidonorite seas. Vastavad ravim-genotüüp seosed olid varasemates uuringutes teistes populatsioonides juba tuvastatud ning antud töö eesmärk oli seoste replitseeritavuse leidmine. Kuigi referentsandmestik sisaldas 46 erinevat ATC koodi, polnud uuringu kohordis kõikide ravimite tarbijaid. Ravimite tarvitajate arv geenidonorite seas, kõrvaltoimete esinemise põhjal grupeeritud, on toodud tabelis 4. Igast ravimipõhisest assotsiatsioonianalüüsist jäeti välja individid, kellel ei leidunud Haigekassa andmebaasi põhjal kokkupuudet vastava ravimi toimeainega. Analüüsides testiti imputeeritud genotüübiandmetes leidunud variandid.

Tabel 4. Ravimite (ATC koodi põhiselt) kasutamisel tekkinud kõrvaltoimete esinemine geenidonoritel. ATC koodidele vastavad ravimi toimeainete nimetused on leitavad tabelina lisast (Lisa 1).

ATC kood	Kõrvaltoime esines	Kõrvaltoimet polnud	Indiviide kokku
M04AA01	79	461	540
J01GB	6	22	28
N06AA09	82	538	620
C10AA05	99	613	712
L04AX01	9	23	32
N03AF01	36	259	295
N06AB04	33	219	252
N06AA04	5	20	25
B01AC04	42	278	320
N06AB03	59	362	421
L04AX03	20	128	148
L01BA01	8	55	63
N06AA10	4	57	61
C10AA03	6	30	36
C10AA01	64	504	568
N02AX02	191	1197	1388
B01AA03	81	448	529

ATC kood – anatoomilis-terapeutiline keemiline kood.

Analüüsides uuritud ravimi toimeainete ja geneetiliste markerite vahelised seosed on välja toodud tulemustabelis (tabel 5). Kokku oli võimalik uurida seitset erinevat seost, nende hulgas ühe ravimi toimeainega (klopidogreel) assotsieerunud kaks erinevat markerit ning ühe geneetilise markeriga (CYP2D6 geenis paiknev polümorfism rs3892097) assotsieerunud kolm erinevat ravimit. Antud markeriga assotsieeruvad ravimi toimeained amitriptüliin, nortriptüliin ja fluoksetiin on närvisüsteemi ravimid, mis kuuluvad samasse antidepressantide farmakoloogilisse alamgruppi. Teostatud analüüsides on kõik tuvastatud seosed statistilise olulisuse määra $p < 0.05$ suhtes ebaolulised.

Tabel 5. Assotsiatsioonianalüüsides uuritud seosed.

ATC kood	Toimeaine	rs number	Geen	OR	CI 95%	p-väärtus
B01AA03	varfariin	rs1057910	<i>CYP2C9</i>	1.719	0.738-4.006	0.1154
B01AC04	klopidogreel	rs12248560	<i>CYP2C19</i>	1.165	0.777-1.746	0.5838
B01AC04	klopidogreel	rs4244285	<i>CYP2C19</i>	0.724	0.368-1.425	0.3817
C10AA01	simvastatiin	rs4149056	<i>SLCO1B1</i>	1.32	0.813-2.142	0.2065
N06AA09	amitriptüliin	rs3892097	<i>CYP2D6</i>	0.8829	0.631-1.234	0.5959
N06AA10	nortriptüliin	rs3892097	<i>CYP2D6</i>	0.2247	0.009-5.69	0.4123
N06AB03	fluoksetiin	rs3892097	<i>CYP2D6</i>	0.5716	0.258-1.268	0.0582

ATC kood – anatoomilis-terapeutiline keemiline kood; rs kood – *reference SNP* (SNP-i viite) number; Geen – geeni sümbol, millesse kuulub vastav geneetiline marker; OR – *odds ratio* (šansside suhe); CI 95% - *confidence interval* (95% usaldusvahemik)

2.3.2 Võrdlus referentsandmestikuga

Tabelis 5 toodud seosed on statistilise olulisuse määra $p < 0.05$ suhtes ebaolulised ning selle võimalikud põhjused on täpsemalt välja toodud käesoleva töö arutelu peatükis. Sellegipoolest võrreldi tulemusi varasemalt teostatud uuringutega, et hinnata geneetiliste markeritega seotud efekti suuruse ja suuna kattuvust varem raporteeritud ravimi kõrvaltoimetega.

- Varfariini ning geneetilise markeri rs1057910 vaheline seos ravimi kõrvaltoimetega. rs1057910 on ühenukleotiidne asendus *CYP2C9* geeni valku kodeerivas alas, mis põhjustab aminohappe leutsiini kodeerimise isoleutsiooni asemel. Tekkinud alleeli

nimetatakse *CYP2C9*3*-ks¹⁴ (Stubbins jt., 1996). PharmGKB andmebaasis on 1A või 1B olulisusega uuringuid kokku 36, millest enamik on seotud ravimi metabolismi ja doseerimisega. Uuringuid ravimi toksilisuse ja kõrvaltoimetega on kolm, millest ühel (Margaglione jt., 2000) on raporteeritud OR ja 95% usaldusvahemik (OR = 2.57, CI 95% = 1.16 – 5.73). TÜ EGV geenidonoritel tuvastatud seose efekt (OR = 1.719) on samasuunaline ning kattub usaldusvahemikuga.

- Klopidooreli ning geneetilise markeri rs12248560 vaheline seos ravimi kõrvaltoimetega. rs12248560 on ühenukleotiidne asendus *CYP2C19* geeni valku kodeerivas alas, mis põhjustab aminohappe proliini kodeerimise seriini asemel. Tekkinud alleeli nimetatakse *CYP2C19*17*-ks (Sim jt., 2006). PharmGKB andmebaasis on 1A või 1B olulisusega uuringuid kokku 26, millest enamik on seotud ravimi efektiivsuse ja doseerimisega. Nendest üheksa uuringut on seotud ravimi toksilisuse ja kõrvaltoimetega. Kolme uuringu tulemustes on raporteeritud OR ja CI 95%, mille põhjal teostati metaanalüüs (peatükk 2.3.3 Metaanalüüs, joonis 4A).
- Klopidooreli ning geneetilise markeri rs4244285 vaheline seos ravimi kõrvaltoimetega. rs4244285 on ühenukleotiidne asendus (G>A) *CYP2C19* geeni valku kodeerivas alas, mis tekitab ebanormaalse splaissingu saidi. Polümorfism kuulub *CYP2C19*2* alleeli koosseisu (de Morais jt., 1994). Kokku on seose kohta PharmGKB andmebaasis 94 kvalifitseeruvat uuringut, millest 34 on seotud ravimi toksilisuse või kõrvaltoimetega. Kaheteistkümnel uuringul on raporteeritud OR ja CI 95% väärtused, mille põhjal teostati metaanalüüs (peatükk 2.3.3 Metaanalüüs, joonis 3A).
- Simvastatiini ja geneetilise markeri rs4149056 vaheline seos ravimi kõrvaltoimetega. rs4149056 on ühenukleotiidne asendus *SLCO1B1* geeni valku kodeerivas alas, mis põhjustab aminohappealaniini kodeerimise valiini asemel. Tekkinud alleeli nimetatakse *SLCO1B1*5*-ks (Tirona jt., 2001). PharmGKB andmebaas sisaldas assotsiatsiooni kohta 8 kvalifitseeruvat uuringut, millest neli on seotud ravimi toksilisuse ja kõrvaltoimetega. Kolme uuringu tulemustes on raporteeritud OR ja CI 95% väärtused, mille põhjal teostati metaanalüüs (peatükk 2.3.3 Metaanalüüs, joonis 5A).
- Amitriptüliini, nortriptüliini ja fluoksetiini ning geneetilise markeri rs3892097 vahelised seosed ravimi kõrvaltoimetega. rs3892097 on ühenukleotiidne asendus

¹⁴ <https://www.snpedia.com/index.php/Rs1057910>

(G>A) *CYP2D6* geeni valku kodeerivas alas, mis tekitab ebanormaalse splaissingu saidi. Polümorfism kuulub *CYP2D6*4* alleeli koosseisu (Kagimoto jt., 1990). Kõik kolm ravimi toimeainet kuuluvad ühte farmakoloogilisse alamgruppi antidepressantide hulka, mis PharmGKB andmebaasi uuringutes on koondatud kokku. Antidepressantide toimeainete seoste kohta on andmebaasis kokku 45 uuringut, millest neli on seotud ravimi kõrvaltoimetega. Ühel uuringul on raporteeritud OR ja CI 95% väärtused (OR = 5.77, CI 95% = 1.59 – 21.03). TÜ EGV geenidoonoritel tuvastatud seose efektid on kõikide ravimi toimeainete puhul varieeruvad, kuid samasuunalised (amitriptüliini analüüs – OR = 0.8829, nortriptüliini analüüs – OR = 0.2247, fluoksetiini analüüs – OR = 0.5716), sellegipoolest ainsa referentsuuringu suhtes vastupidised.

2.3.3 Metaanalüüs

TÜ EGV geenidoonorite andmete põhjal läbiviidud assotsiatsioonianalüüside tulemused olid statistilise olulisuse määra $p < 0.05$ suhtes ebaolulised. Võrdlemaks uuringute tulemusi varasemalt teostatud PharmGKB-s raporteeritud uuringute tulemustega, koostati teadaolevate tulemuste OR ja CI 95% väärtuste põhjal metaanalüüsid (joonised 3A, 4A, 5A). Metaanalüüsi oli võimalik teostada kolme ravimi toimeaine ja geneetilise variandi vahelise seose kohta, millel olid rohkem kui ühe uuringu OR ja CI 95% väärtused teada. Ülejäänud seoste kohta polnud PharmGKB andmebaasis piisavalt informatsiooni.

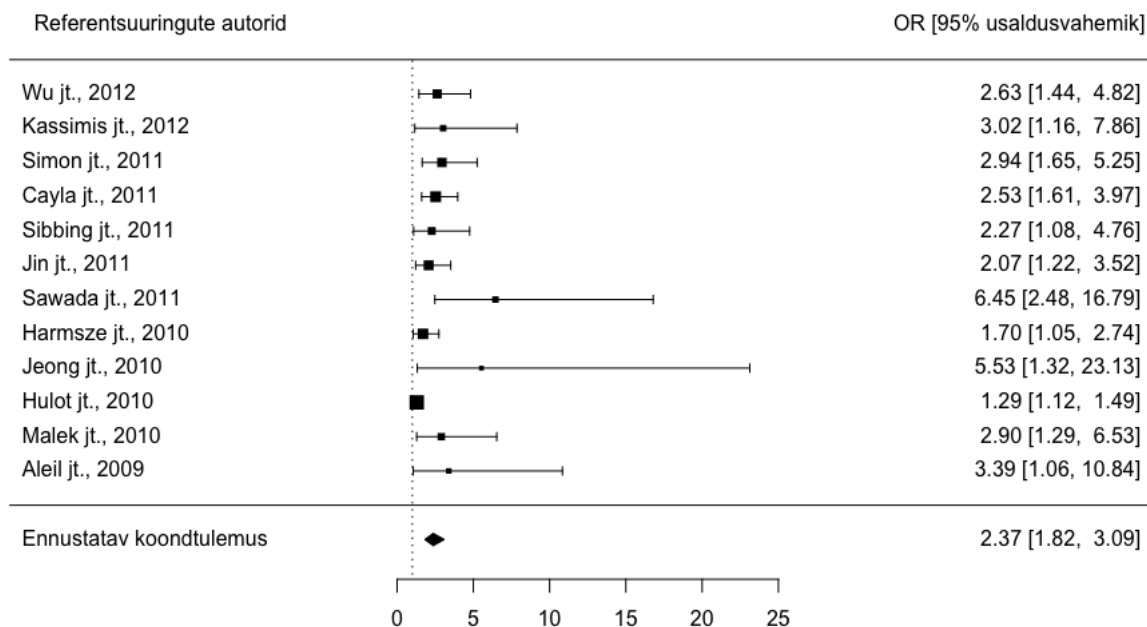
Lisaks referentsandmestikul põhinevatele metaanalüüsidele koostati võrdlemise eesmärgil teised metaanalüüsid (joonised 3B, 4B ja 5B), mis sisaldasid ka TÜ EGV geenidoonorite andmete põhjal teostatud analüüsides tuvastatud seoste efekti suurusi koos 95% usaldusvahemikuga.

Klopidooreli ja geneetilise markeri rs4244285 vahelise seose kaheteistkümne uuringu raporteeritud efekti suuruste põhjal koostati metaanalüüs (joonis 3A), mille koondtulemuseks hinnati OR = 2.37 (CI 95% = 1.82 – 3.09). TÜ EGV geenidoonorite andmete analüüsil saadi tulemuseks vastupidine efekt OR = 0.724 (CI 95% = 0.368 – 1.425).

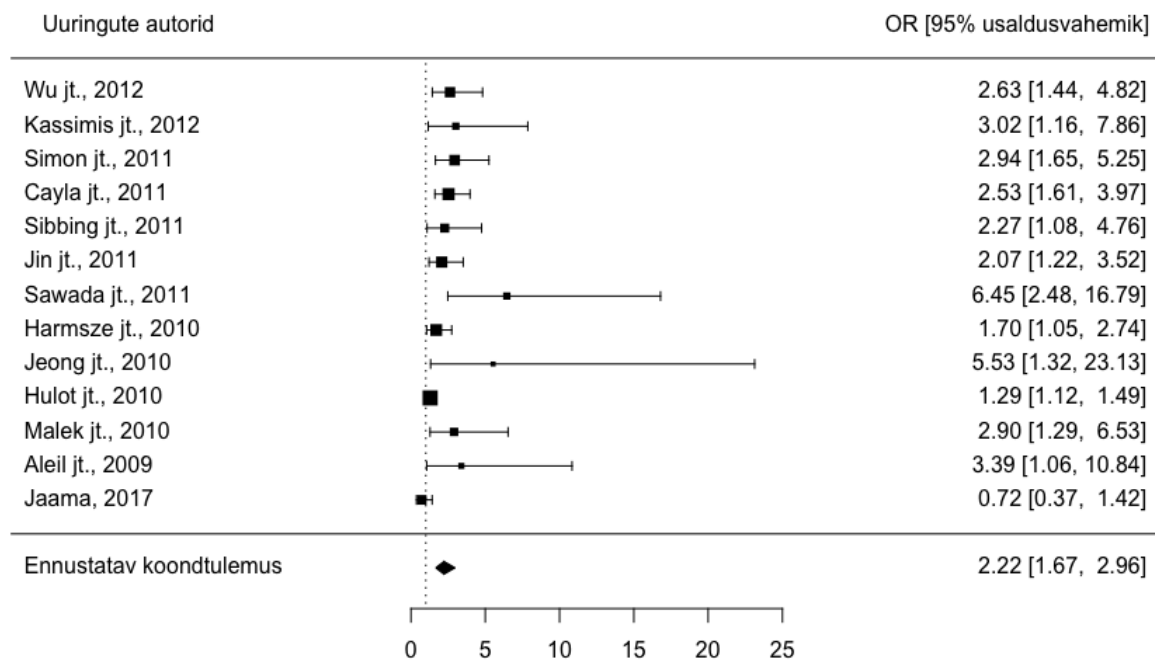
Käesolevas töös saadud vastupidine seose efekt klopidooreli ja geneetilise markeri rs4244285 vahel ei mõjutanud oluliselt metaanalüüsi ennustatavat koondtulemust (joonis

3B), efekti suurus ja 95% usaldusvahemikud jäid sarnasesse suurusjärku OR = 2.22 (CI 95% = 1.67 – 2.96), varasemalt OR = 2.37 (CI 95% = 1.82 – 3.09).

A



B



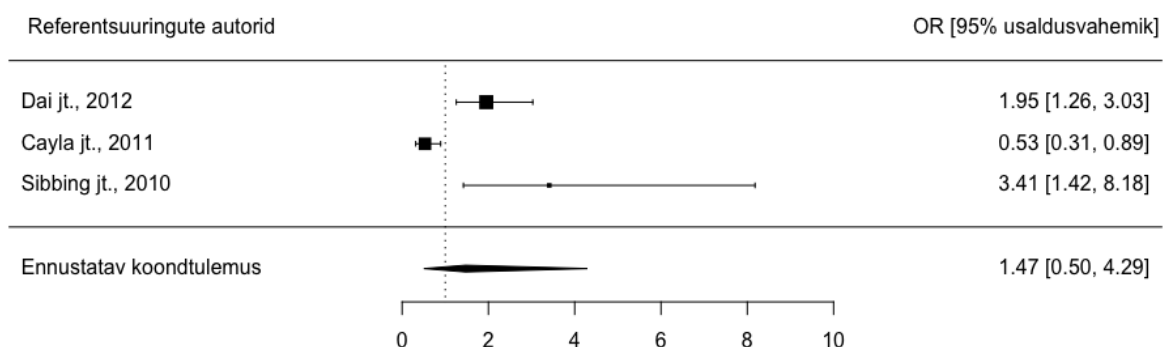
Joonis 3. A) Klopidooreli ja geneetilise markeri rs4244285 seoseid PharmGKB andmebaasis raporteerinud uuringute tulemuste OR ja CI 95% väärtuste põhjal koostatud metaanalüüs

forest plot-i joonisel. **B)** Metaanalüüs koos TÜ EGV andmete põhjal teostatud analüüsi tulemustega – Jaama, 2017.

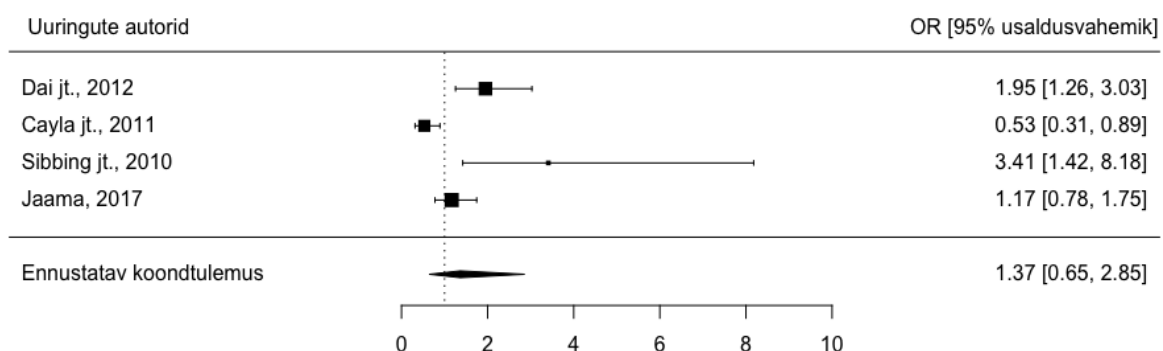
Klopidoogreeliga on seotud ka teine geneetiline marker rs12248560, mille raporteeritud efekti suuruste põhjal koostati metaanalüüs (joonis 4A). Ühes metaanalüüsi kaasatud uuringus (Cayla jt., 2011) tuvastati markeri oluliselt suurem esinemissagedus kontrollide hulgas võrreldes juhtudega, mis kirjeldab teiste uuringute suhtes vastupidist efekti ($OR = 0.53$, $CI\ 95\% = 0.31 - 0.89$). Metaanalüüsi ennustatava koondtulemuse $OR = 1.47$ ($CI\ 95\% = 0.50 - 4.29$) põhjal ei ole võimalik järeldusi teha, sest hinnang läbib neutraalse efekti joone ($OR = 1$). TÜ EGV geenidoonorite andmete analüüsil saadi tulemuseks kahe teise uuringuga (Dai jt., 2012; Sibbing jt., 2010) sarnane, kuid väiksem efekt $OR = 1.165$.

TÜ EGV geenidoonorite andmete analüüsi kaasamine metaanalüüsi (joonis 4B) ei mõjutanud oluliselt ennustatavat koondtulemust efekti suuruse osas (eelnevalt $OR = 1.47$, teise metaanalüüsi põhjal $OR = 1.37$). 95% usaldusvahemik muutus oluliselt väiksemaks (eelnevalt $CI\ 95\% = 0.50 - 4.29$, teise metaanalüüsi põhjal $0.65 - 2.85$). Metaanalüüsi koondtulemus on jätkuvalt statistiliselt ebaoluline, sest 95% usaldusvahemik läbib neutraalse efekti joone.

A



B



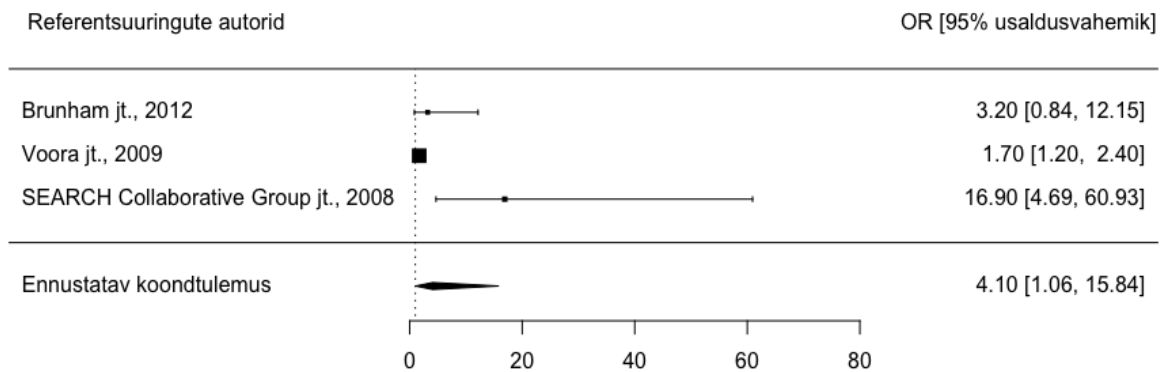
Joonis 4. A) Klopidooreli ja geneetilise markeri rs12248560 seoseid PharmGKB andmebaasis raporteerinud uuringute tulemuste OR ja CI 95% väärtuste põhjal koostatud metaanalüüs *forest plot*-i joonisel. **B)** Metaanalüüs koos TÜ EGV andmete põhjal teostatud analüüsi tulemustega – Jaama, 2017.

Simvastatiini ja geneetilise markeri rs4149056 vahelise seose kolme PharmGKB andmebaasis raporteeritud efekti suuruse põhjal koostati metaanalüüs (joonis 5A). Analüüsi koondtulemus hindab efekti suuruseks OR = 4.10 (CI 95% = 1.06 – 15.84). Usaldusvahemikku mahub ka TÜ EGV geenidoonorite andmete assotsiatsioonianalüüsil tuvastatud efekt OR = 1.32. Metaanalüüsi hinnangul omab rs4149056 ravimi kõrvaltoimete tekkimisel suurendatud mõju, millega kattub assotsiatsioonianalüüsi tulemus.

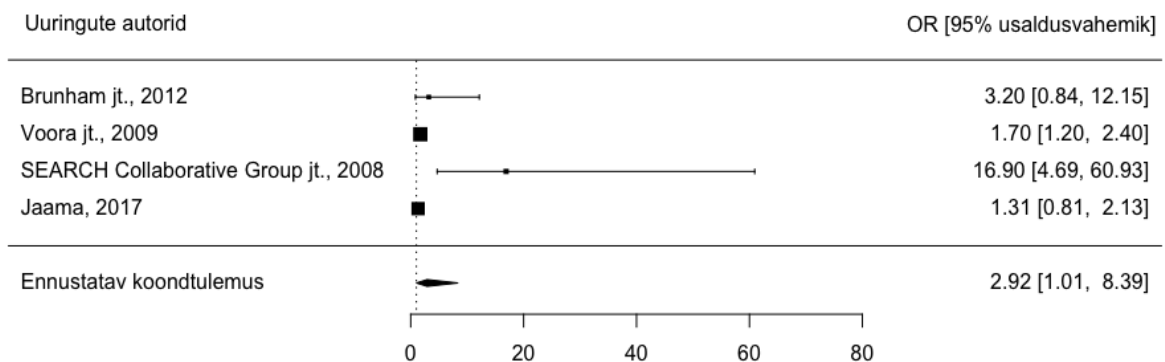
Lisades metaanalüüsi geenidoonorite andmetel teostatud analüüsi (joonis 5B), vähenevad ennustatavad väärtused suurusjärgu võrra. Ennustatav efekti suurus väheneb (eelnevalt

väärtuselt OR = 4.10 -> 2.92) ning 95% usaldusvahemik (CI95% = 1.06 – 15.84 -> 1.01 – 8.39) sarnaselt.

A



B



Joonis 5. A) Simvastatiini ja geneetilise markeri rs4149056 seoseid PharmGKB andmebaasis raporteerinud uuringute tulemuste OR ja CI 95% väärtuste põhjal koostatud metaanalüüs *forest plot*-i joonisel.**B)** Metaanalüüs koos TÜ EGV andmete põhjal teostatud analüüsi tulemustega – Jaama, 2017.

2.4 Arutelu

Personaalmehitsiini peamiseks eesmärgiks on ohutu ja efektiivse ravi võimaldamine igale indiidile lähtuvalt tema isiklikest eripäradest. Vastav ravimi toimeaine ja annus, mis ühele indiidile sobib ning tagab komplikatsioonideta soovitud raviefekti, võib teisele mõjuda sootuks vastupidiselt, põhjustades ravimi manustamisel kõrvaltoimete tekkimise ning samas ei saavutata soovitud ravi tulemust. Sellise indiididevahelise varieeruvuse põhjusteks on mitmed erinevad faktorid – nii keskkonna tegurid, patsiendi füsioloogilised eripärad, kui ka geneetilised variatsioonid (Meyer jt., 2013). Geneetilise varieeruvuse mõjude tuvastamisega tegeleb farmakogeneetika, mis on aluseks personaalmehitsiinile (Ma ja Lu, 2011; Schwab ja Schaeffeler, 2012).

Farmakogeneetika valdkonna uuringuid tehakse pidevalt üle kogu maailma. Mitmed organisatsioonid on võtnud eesmärgiks sarnaste uuringute koondamise ühtsesse andmebaasi, et informatsioon oleks lihtsasti kättesaadav. Üheks suurimaks antud valdkonnas on PharmGKB andmebaas¹⁵, mis sisaldab käsitsi üle kontrollitud uuringute tulemusi. Kliinilised annotatsioonid on kättesaadavad erinevate geneetiliste markerite kohta, mis on klassifitseeritud erinevate mõjude järgi ravimi efektiivsuse, metabolismi, doseerimise, toksilisuse ning kõrvaltoimetega seotud kategooriatesse (Thorn jt., 2013).

Käesoleva töö raames kasutati PharmGKB andmebaasi ravimi kõrvaltoimetega seotud uuringute kohta informatsiooni kogumisel. Ainult kõige kõrgema hinnanguga (1A ja 1B olulisusega) ravim-genotüüp seosed koondati ühtsesse andmestikku, et tuvastada varasemalt tuvastatud seoste replitseeritavus TÜ EGV geenidonorite seas. Koostatud andmestikku lisati 500 individuaalset ravim-genotüüp seost, millest kolmandikul (168 juhul) polnud raporteeritud assotsiatsiooni efekti suurust. Raporteerimata efekti suurustega uuringute puhul kontrolliti tulemusi originaalartiklitest ning üksikute juhtudel leiti, et vastavad väärtused on tulemustes välja toodud, kuid puuduvad PharmGKB andmebaasis. Vastaval juhul täiendati originaalartiklite põhjal referentsandmesikku.

Assotsiatsiooni efekti suuruse väljatoomine uuringu tulemustes on oluline selleks, et vastava uuringu tulemusi võrrelda teiste sarnaste uuringutega. Sullivan ja Feinn (2012) kinnitavad

¹⁵ <https://www.pharmgkb.org>

efekti suuruse välja toomise tähtsust, sest ilma võib küll teada assotsiatsiooni olemasolust, kuid osa informatsiooni jääb varjatuks.

Käesoleva töö raames uuritud mitmete seoste võrdlemine varasemate tulemustega oli raskendatud raporteerimata efekti suuruse tõttu. Üheks töö eesmärgiks oli varasemate uuringute koondamine ühtseks tervikuks metaanalüüsi abil, kuid mitme seose puhul polnud seda andmete puudulikkuse tõttu võimalik teostada. Metaanalüüsi teostamise üheks oluliseks põhjuseks oli töö raames läbi viidud analüüside tulemused. Erinevate ravimi toimeainete ja geneetiliste markerite vahel tuvastati assotsiatsioonianalüüsides küll seitse erinevat potentsiaalset seost, kuid statistilise olulisuse määra $p < 0.05$ suhtes olid kõik seosed statistiliselt ebaolulised. Metaanalüüsi abil sooviti hinnata TÜ EGV geenidonorite andmete põhjal teostatud analüüside tulemuste kattuvust varasemate uuringutega, et tuvastada efekti suuna ja suuruse sarnasus või erinevus.

Assotsiatsioonianalüüsides statistiliselt ebaoluliste tulemuste põhjuseid võib olla mitmeid:

- vähene ravimi kõrvaltoimete tekkimisest teavitamine ning nende registreerimata jätmine patisendi terviseandmetesse;
- spetsiifilised 79 ICD-10 koodi, mis valiti kõrvaltoimete fenotüüpideks, koondavad väga eriilmelised haigused;
- analüüsis kasutati TÜ EGV geenidonorite andmeid, mis esindavad üldist populatsiooni. Indiviidid pole valitud uuringusse vastavalt konkreetsele manustatud ravimile ja kõrvaltoimetele;
- mitmete ravimite tarvitajate hulk on väike, mille tõttu on mitmetes vastavates analüüsides kasutaud indiviidide valim väga väike;
- ajatelje puudumine andmestikus – pole võimalik kindlaks teha, kas konkreetse ravimi manustamine põhjustas kõrvaltoime tekkimise – analüüs tentatiivse loomuga.

Ravimite manustamisest tekkinud kõrvaltoimete vähene teavitamine on suhteliselt levinud probleem, mille täpset ulatust on keeruline hinnata. Erinevaid kõrvaltoimete alateavitamisega seotud uuringuid koondanud kokkuvõtte andmetel võib kõrvaltoimetega kokku puutuvate ravimi manustajate teavitamisest erinevatel põhjustel loobuvate indiviidide

osakaal ulatuda üle 90% (Hazell ja Shakir, 2006). Ravimiameti andmetel¹⁶ on kõrvaltoimete raporteerimine Eestis positiivse trendiga. Kui ravimi tarvitajad tekkivatest kõrvaltoimetest arsti ei teavita, ei jõua ka vajalikud kanded patsiendi terviseandmestikku. Käesolevas töös tähendaks puudulik andmestik ebatäpset indiviidide klassifitseerimist assotsiatsioonianalüüsi juhtudeks ja kontrollideks. Saadaval olevate andmete põhjal pole võimalik probleemi olemasolu kinnitada, kuid tulemuste interpreteerimisel tuleb arvestada selle potentsiaalse võimalusega.

Kuna uuring teostati populatsioonandmete põhjal, on väljatoodud probleemi olemasolu andmestikus suurem. Tavapärastelt valitakse farmakogeneetilisse analüüsi, milles uuritakse geneetiliste markerite seost ravimi kõrvaltoimetega, ainult konkreetset ravimit tarvitavad indiviidid. Üheks võimaluseks uute ravimite puhul on andmete kogumine ravimi kliiniliste katsete ajal, mis tagab täpsema informatsiooni ravimi tarvitajate kohta (Motsinger-Reif jt., 2013).

Lisaks oli mitme ravimi tarvitajate arv statistilise analüüsi jaoks liiga väike, kuna statistiline võimsus jäi madalaks. Oluline on välja tuua, et mitme ravimi puhul oli just kõrvaltoimeid kogenud indiviidide hulk väga väike. Suurema valimi korral assotsiatsioonianalüüsis on ka statistiline võimsus suurem, mis võimaldab paremini seoseid tuvastada. Antud probleemi puhul on tegemist üldise farmakogeneetilise uuringuid puudutava kitsaskohaga (Daly, 2010). Ravimi tarvitajate valimi suurendamise üheks võimaluseks oleks leida esmalt vastavad indiviidid ning seejärel koguda nende geneetiline materjal sekveneerimiseks või genotüpiseerimiseks ning hilisemaks assotsiatsioonianalüüsiks.

Analüüsides leitud seitsme seose ($p > 0.05$) kõrvutamiseks varasemate tulemustega teostati olemasolevate andmete põhjal metaanalüüsid. Andmete vähesuse tõttu oli võimalik metaanalüüs teostada kolmele assotsiatsioonile:

- klopidoogreel ja geneetiline marker rs4244285. Käesoleva töö raames teostatud assotsiatsioonianalüüsis saadi seose efekti suuruseks $OR = 0.724$ ($p = 0.3817$), mis ei kattu metaanalüüsi käigus tuvastatud ennustatava koondtulemusega ($OR = 2.37$, $CI\ 95\% = 1.82 - 3.09$). Metaanalüüsi hinnangul on markeri rs4244285 genotüübiga ravimi tarvitajatel suurem tõenäosus ravimi kõrvaltoimete tekkimisele, geenidoonorite andmetel teostatud analüüs raporteerib vastupidist.

¹⁶ <https://www.ravimiamet.ee/2016-aastal-laekunud-ravimi-korvaltoime-teatised>

- klopidooreel ja geneetiline marker rs12248560. Käesoleva töö raames teostatud assotsiatsioonianalüüsis saadi seose efekti suuruseks $OR = 1.165$ ($p = 0.5838$). Metaanalüüsi ennustatav koondtulemus hindab efekti suuruseks $OR = 1.47$ ($CI\ 95\% = 0.50 - 4.29$). Metaanalüüsi 95% usaldusvahemik on lai ning läbib neutraalse efekti hinnangu ($OR = 1$), see tähendab assotsiatsiooni efekti võimalikku puudumist. Selle põhjustavad metaanalüüsis kasutatud uuringute erinevad tulemused, millest kaks uuringut hindavad markeri mõjuks suurenenud tõenäosuse kõrvaltoimete tekkeks ning kolmas neile vastupidiselt vähenenud tõenäosuse. Seetõttu pole analüüside tulemuste võrdlemine informatiivne, kuigi geenidonorite andmetel tuvastatud seose efekti suurus sobitub metaanalüüsi usaldusvahemikku.
- simvastatiin ja geneetiline marker rs4149056. Assotsiatsioonianalüüsis tuvastatud seose efekti suuruseks saadi $OR = 1.32$ ($p = 0.2065$), mis sobitub metaanalüüsi ennustatava koontulemuse 95% usaldusvahemikku ($OR = 4.10$, $CI\ 95\% = 1.06 - 15.84$). Tulemused hindavad seose mõjuks markeri rs4149056 genotüübiga indiviididel simvastatiini manustamisel kõrgeenenud ravimi kõrvaltoimete tekkimise tõenäosuse.

Ravimi kõrvaltoimete esinemine defineeriti ravimi tarvitajatel 79 spetsiaalselt valitud ICD-10 koodi põhjal. Vastavad 79 ICD-10 koodi hõlmavad eriilmelisi haiguseid, mis võivad olla põhjustatud erinevatest faktoritest. Samuti takistab uuringute andmestikus ajatelje puudumine kindlaks määramast ravimi tarvitamise ja konkreetsele ICD-10 koodile vastava haiguse avaldumise põhjuslikkuse seost. Isegi kui sündmuste järjekord on kindel (ravimi kõrvaltoimeks defineeritud haigus avaldub peale ravimi tarvitamise alustamist), ei ole paljudel juhtudel võimalik kindel olla, et vastava haiguse põhjustas konkreetse ravimi tarvitamine (Eland jt., 1999).

Käesoleva töö raames TÜ EGV geenidonorite populatsioonipõhise andmestiku põhjal teostatud assotsiatsioonianalüüsi tulemused ei ole statistiliselt olulised ning seega ei leidnud kinnitust PharmGKB andmebaasis 1A ja 1B olulisusega ravimi kõrvaltoimetega seotud ravim-genotüüp assotsiatsioonide olemasolu ka geenidonorite kohordis.

KOKKUVÕTE

Käesoleva magistritöö eesmärgiks oli PharmGKB andmebaasi 1A ja 1B kindluse määraga ravimi toksilisuse või kõrvaltoimetega seotud ravim-genotüüp assotsiatsioonide replitseerimine geenidonorite kohordis kasutades elektroonilistes terviseandmetes olemasolevaid andmeid.

Selleks koostati vastavate seoste referentsandmestik, mis sisaldas 500 kannet erinevate ravim-kõrvaltoime seoste kohta. Andmestikku kaasati 27 geneetilist markerit, mis olid seotud 46 erineva ravimi toimeaine põhjustatud kõrvatoimetega. Vastavate geneetiliste markerite ning ravimite kõrvaltoimete vaheliste seoste olemasolu tuvastamiseks Tartu Ülikooli Eesti Geenivaramu geenidonorite kohordis teostati andmete põhjal assotsiatsioonianalüüsid. Genotüübiandmed pärinesid ülegenoomselt sekveneeritud DNA andmetest ning genotüpiseerimiskiipidelt, kokku 16 226 indiviidilt.

Assotsiatsioonianalüüsis kasutati vaid neid indiviide, kes olid vastavat ravimit tarvitanud. Analüüsides leiti seitse võimalikku seost ravimi toimeaine ning kõrvaltoime esinemise vahel ning tuvastati võimalike seoste efekti suurus. Statistilise olulisuse määra $p < 0.05$ suhtes olid kõik tuvastatud seosed ebaolulised. Tulemuste põhjal ei saa kinnitada seoste olemasolu geenidonorite kohordis.

Saadud tulemusi võrreldi varasemalt publitseeritud uuringute tulemustega referentsandmestikus, et hinnata efektide suuna ja suuruste sarnasust. Kolme seose kohta koostati referentsandmestiku põhjal metaanalüüsid, visualiseerimaks saadud tulemuste erinevusi ja sarnasusi.

Käesoleva töö põhjal ei saa kinnitada PharmGKB andmebaasis kliiniliselt oluliste seoste esinemist ka geenidonorite kohordis. Kuna mõne võimaliku seose puhul tuvastati varasemate uuringutega võrreldes samasuunaline tulemus, tasub suurema valimiga analüüse korrata. Edasise uurimise korral tasub kaaluda uuringu analüüsi disaini kohandamist vastavalt töös käsitletud probleemidele.

Replication of highly significant pharmacogenetical interactions causing adverse drug reactions based on Estonian Genome Center

Mattis Jaama

SUMMARY

Population variation considering drug response is very high. One drug that suits one individual may cause adverse drug reactions to another. Variance is affected by different factors, including genetic variation. Pharmacogenetic studies investigate interactions between drug response and genetics. Pharmacogenetics is the backbone of personalized medicine, that strives to achieve safe and effective treatment to every individual.

Genetic variations affecting drug response are mainly in genes coding drug metabolizing enzymes, drug transporters or drug targets, and in other regions of genome as well. Detecting genetic markers affecting drug response, pharmacological association analysis is used.

Analysis results of clinically important drug-genotype interactions are gathered to PharmGKB database, that includes information about hundreds of different genetic markers interacting with drug efficacy, metabolism, dosing, toxicity and adverse drug reactions.

In this study, a dataset was constructed based on PharmGKB database, including all clinically important genetic markers that interacted with adverse drug reactions. This reference dataset consisted of 500 entries, including 27 different genetic markers interacting with 46 different drugs. Association analysis based on Tartu University Estonian Genome Center's gene donor's data was run based on the constructed dataset to detect interactions in population data. Genotype data of 16 226 individuals originated from whole genome sequencing data and data from three different genotyping chips.

The aim of this study was to replicate genetic interactions with drugs and adverse drug reactions with 1A and 1B level of evidence based on PharmGKB database in Estonian gene donor's cohort, using data from electronic health records.

Association analysis discovered seven potential interactions between genetic markers and adverse drug reactions of specific drugs. All interactions were non-significant considering

statistical significance value of $p < 0.05$. The results of this study do not confirm the existence of these interactions in gene donor's cohort.

The results of association analysis were compared to the results of previously reported studies using reference dataset to evaluate the similarity of associations effect size and direction. Meta-analysis was done to visualize differences and similarities of those interactions, where sufficient data was available.

Based on the results of this study, replication of clinically important interactions from PharmGKB database in Estonian gene donor's cohort cannot be confirmed.

TÄNUAVALDUSED

Soovin oma suurimad tänusõnad pühendada parimatele juhendajatele Tõnis Tasale ja Lili Milanile. Eriline tänu Tõnisele, kes oli alati igakülgsest valmis töö edenemisele kaasa aitama! Samuti Lilile, kelle näpunäited aitasid tööd alati õigel kursil hoida!

Samuti tänan oma vanemaid ja suurepärast kaaslast, kes innustasid ning motiveerisid tööd kirjutama ka kõige raskematel hetkedel!

Aitäh ka kõigile teistele kaasaelajatele!

KASUTATUD KIRJANDUS

- Ahmed, S., Zhou, Z., Zhou, J. and Chen, S.-Q. (2016). "Pharmacogenomics of Drug Metabolizing Enzymes and Transporters: Relevance to Precision Medicine." *Genomics, Proteomics & Bioinformatics* 14 (5): 298–313.
- Akobeng, A. K. (2005). "Understanding Systematic Reviews and Meta-Analysis." *Archives of Disease in Childhood* 90 (8): 845–48.
- Aleil, B., Leon, C., Cazenave, J.-P. and Gachet, C. (2009). "CYP2C19*2 Polymorphism Is Not the Sole Determinant of the Response to Clopidogrel: Implications for Its Monitoring." *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 7 (10): 1747–49.
- Altshuler, D. and Daly, M. (2007). "Guilt beyond a Reasonable Doubt." *Nature Genetics* 39 (7): 813–15.
- American Medical Association (2011). "Pharmacogenomics: Increasing the Safety and Effectiveness of Drug Therapy."
- Aschard, H., Vilhjálmsson, B. J., Joshi, A. D., Price, A. L. and Kraft, P. (2015). "Adjusting for Heritable Covariates Can Bias Effect Estimates in Genome-Wide Association Studies." *American Journal of Human Genetics* 96 (2): 329–39.
- Berm, E. J. J., de Looft, M., Wilffert, B., Boersma, C., Annemans, L., Vegter, S., van Boven, J. F. M. and Postma, M. J. (2016). "Economic Evaluations of Pharmacogenetic and Pharmacogenomic Screening Tests: A Systematic Review. Second Update of the Literature." *PloS One* 11 (1): e0146262.
- Brookes, A. J. (1999). "The Essence of SNPs." *Gene* 234 (2): 177–86.
- Brunham, L. R., Lansberg, P. J., Zhang, L., Miao, F., *et al.* (2012). "Differential Effect of the rs4149056 Variant in SLCO1B1 on Myopathy Associated with Simvastatin and Atorvastatin." *The Pharmacogenomics Journal* 12 (3): 233–37.
- Cayla, G., Hulot, J.-S., O'Connor, S.-A., *et al.* (2011). "Clinical, Angiographic, and Genetic Factors Associated with Early Coronary Stent Thrombosis." *JAMA* 306 (16): 1765–74.
- Dai, Z.-I., Chen, H. and Wu, X.-I. (2012). "Relationship between Cytochrome P450 2C19*17 Genotype Distribution, Platelet Aggregation and Bleeding Risk in Patients with Blood Stasis Syndrome of Coronary Artery Disease Treated with Clopidogrel." *Journal of Chinese Integrative Medicine* 10 (6): 647–54.
- Daly, A. K. (2010). "Genome-Wide Association Studies in Pharmacogenomics." *Nature Reviews Genetics* 11 (4): 241–46.
- Doughy, T., Mattie, L. and Zaharias, K. (2011). "Focus on the Goal: Be Most Efficient: How an EDIS Can Be Used to Support Change." *Health Management Technology* 32 (12): 16–18.
- Drew, L. (2016). "Pharmacogenetics: The Right Drug for You." *Nature* 537 (7619). Nature Research: S60–62.
- Eland, I. A., Belton, K. J., van Grootheest, A C., Meiners, A. P., Rawlins, M. D. and Stricker, B. H. (1999). "Attitudinal Survey of Voluntary Reporting of Adverse Drug Reactions." *British Journal of Clinical Pharmacology* 48 (4): 623–27.

- Evangelou, E. and Ioannidis, J. P. A. (2013). "Meta-Analysis Methods for Genome-Wide Association Studies and beyond." *Nature Reviews Genetics* 14 (6): 379–89.
- Evans, W. E. and Relling, M. V. (1999). "Pharmacogenomics: Translating Functional Genomics into Rational Therapeutics." *Science (New York, N.Y.)* 286 (5439): 487–91.
- Fitzmaurice, D. A., Blann, A. D. and Lip, G. Y. H. (2002). "Bleeding Risks of Antithrombotic Therapy." *BMJ (Clinical Research Ed.)* 325 (7368): 828–31.
- Franke, R. M., Gardner, E. R. and Sparreboom, A. (2010). "Pharmacogenetics of Drug Transporters." *Current Pharmaceutical Design* 16 (2): 220–30.
- Gardiner, S. J. and Begg, E. J. (2006). "Pharmacogenetics, Drug-Metabolizing Enzymes, and Clinical Practice." *Pharmacological Reviews* 58 (3): 521–90.
- Gazzard, B. G. (2008). "British HIV Association Guidelines for the Treatment of HIV-1-Infected Adults with Antiretroviral Therapy 2008." *HIV Medicine* 9 (8): 563–608.
- Grider, D. J. and American Medical Association. 2010. *Preparing for ICD-10-CM : Make the Transition Manageable*. Chicago, Illinois.
- Harmsze, A. M., van Werkum, J. W., ten Berg, *et al.* (2010). "CYP2C19*2 and CYP2C9*3 Alleles Are Associated with Stent Thrombosis: A Case-Control Study." *European Heart Journal* 31 (24): 3046–53.
- Hazell, L. and Shakir, S. A. W. (2006). "Under-Reporting of Adverse Drug Reactions : A Systematic Review." *Drug Safety* 29 (5): 385–96.
- He, L., Vasilou, K. and Nebert, D. W. (2009). "Analysis and Update of the Human Solute Carrier (SLC) Gene Superfamily." *Human Genomics* 3 (2): 195–206.
- Howie, B. N., Donnelly, P. and Marchini, J. (2009). "A Flexible and Accurate Genotype Imputation Method for the next Generation of Genome-Wide Association Studies." *PLoS Genetics* 5 (6): e1000529.
- Hui, C., Vaillancourt, R., Bair, L., Wong, E. and King, J. W. (2016). "Accuracy of Adverse Drug Reaction Documentation upon Implementation of an Ambulatory Electronic Health Record System." *Drugs - Real World Outcomes* 3 (2): 231–38.
- Hulot, J.-S., Collet, J. P., Silvain, J., Pena, A., Bellemain-Appaix, A., Barthélémy, O., Cayla, G., Beygui, F. and Montalescot, G. (2010). "Cardiovascular Risk in Clopidogrel-Treated Patients According to Cytochrome P450 2C19*2 Loss-of-Function Allele or Proton Pump Inhibitor Coadministration." *Journal of the American College of Cardiology* 56 (2): 134–43.
- Ingelman-Sundberg, M. (2005). "Genetic Polymorphisms of Cytochrome P450 2D6 (CYP2D6): Clinical Consequences, Evolutionary Aspects and Functional Diversity." *The Pharmacogenomics Journal* 5 (1): 6–13.
- Ioannidis, J. P. A., Patsopoulos, N. A., Evangelou, E., Ioannidis, J. P. and Ferrell, R. E. (2007). "Heterogeneity in Meta-Analyses of Genome-Wide Association Investigations." Edited by Gonçalo Abecasis. *PLoS ONE* 2 (9): e841.
- Issa, A. M. (2007). "Personalized Medicine and the Practice of Medicine in the 21st Century." *McGill Journal of Medicine : MJM : An International Forum for the Advancement of Medical Sciences by Students* 10 (1): 53–57.

- Jancova, P., Anzenbacher, P. and Anzenbacherova, E. (2010). "Phase II Drug Metabolizing Enzymes." *Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacký, Olomouc, Czechoslovakia* 154 (2): 103–16.
- Jeong, Y.-H., Kim, I.-S., Park, Y., Kang, M.-K., Koh, J.-S., Hwang, S.-J., Kwak, C. H. and Hwang, J. Y. (2010). "Carriage of Cytochrome 2C19 Polymorphism Is Associated With Risk of High Post-Treatment Platelet Reactivity on High Maintenance-Dose Clopidogrel of 150 Mg/day." *JACC: Cardiovascular Interventions* 3 (7): 731–41.
- Jetté, N., Quan, H., Hemmelgarn, B., *et al.* (2010). "The Development, Evolution, and Modifications of ICD-10." *Medical Care* 48 (12): 1105–10.
- Jin, B., Ni, H.-C., Shen, W., Li, J., Shi, H.-M. and Li, Y. (2011). "Cytochrome P450 2C19 Polymorphism Is Associated with Poor Clinical Outcomes in Coronary Artery Disease Patients Treated with Clopidogrel." *Molecular Biology Reports* 38 (3): 1697–1702.
- Johnson, J. A. (2013). "Pharmacogenetics in Clinical Practice: How Far Have We Come and Where Are We Going?" *Pharmacogenomics* 14 (7): 835–43.
- Kagimoto, M., Heim, M., Kagimoto, K., Zeugin, T. and Meyer, U. A. (1990). "Multiple Mutations of the Human Cytochrome P450IID6 Gene (CYP2D6) in Poor Metabolizers of Debrisoquine. Study of the Functional Significance of Individual Mutations by Expression of Chimeric Genes." *The Journal of Biological Chemistry* 265 (28): 17209–14.
- Kalow, W., Tang, B. K. and Endrenyi, L. (1998). "Hypothesis: Comparisons of Inter- and Intra-Individual Variations Can Substitute for Twin Studies in Drug Research." *Pharmacogenetics* 8 (4): 283–89.
- Kassimis, G., Davlouros, P., Xanthopoulou, I., Stavrou, E. F., Athanassiadou, A. and Alexopoulos, D. (2012). "CYP2C19*2 and Other Genetic Variants Affecting Platelet Response to Clopidogrel in Patients Undergoing Percutaneous Coronary Intervention." *Thrombosis Research* 129 (4): 441–46.
- Kaplun, A., Hogan, J. D., Schacherer, F., Peter, A. P., Krishna, S., Braun, B. R., Nambudiry, R., Nitu, M. G., Mallelwar, R. and Albayrak, A. (2016). "PGMD: A Comprehensive Manually Curated Pharmacogenomic Database." *The Pharmacogenomics Journal* 16 (2): 124–28.
- Kirchheiner, J., Nickchen, K., Bauer, M., Wong, M.-L., Licinio, J., Roots, I. and Brockmöller, J. (2004). "Pharmacogenetics of Antidepressants and Antipsychotics: The Contribution of Allelic Variations to the Phenotype of Drug Response." *Molecular Psychiatry* 9 (5): 442–73.
- Kirchheiner, J. and Seeringer, A. (2007). "Clinical Implications of Pharmacogenetics of Cytochrome P450 Drug Metabolizing Enzymes." *Biochimica et Biophysica Acta* 1770 (3): 489–94.
- Knibbs, G. H. (1929). "The International Classification of Disease and Causes of Death and Its Revision." *Medical Journal* 1. Australia: 2–12.
- Kruglyak, L. (1999). "Prospects for Whole-Genome Linkage Disequilibrium Mapping of Common Disease Genes." *Nature Genetics* 22 (2): 139–44.
- Kubica, A., Kozinski, M., Grzesk, G., Fabiszak, T., Navarese, E. P. and Goch, A. (2011). "Genetic Determinants of Platelet Response to Clopidogrel." *Journal of Thrombosis and Thrombolysis* 32 (4): 459–66.

- Law, V, Knox, G., Djoumbou, Y., *et al.* (2014). "DrugBank 4.0: Shedding New Light on Drug Metabolism." *Nucleic Acids Research* 42 (D1): D1091–97.
- Lewis, S. and Clarke, M. (2001). "Forest Plots: Trying to See the Wood and the Trees." *BMJ* 322 (7300).
- Luzum, J. A., Pakyz, R. E., Elsey, A. R., *et al.* (2017). "The Pharmacogenomics Research Network Translational Pharmacogenetics Program: Outcomes and Metrics of Pharmacogenetic Implementations Across Diverse Healthcare Systems." *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, January.
- Ma, Q. and Lu, A. Y. H. (2011). "Pharmacogenetics, Pharmacogenomics, and Individualized Medicine." *Pharmacological Reviews* 63 (2): 437–59.
- Małek, L. A., Przyłuski, J., Śpiewak, M., Kłopotowski, M., Kostrzewa, G., Kruk, M., Płoski, R., Witkowski, A. and Rużyłło, W. (2010). "Cytochrome P450 2C19 Polymorphism, Suboptimal Reperfusion and All-Cause Mortality in Patients with Acute Myocardial Infarction." *Cardiology* 117 (2): 81–87.
- Manolio, T. A. (2010). "Genomewide Association Studies and Assessment of the Risk of Disease." *The New England Journal of Medicine* 363 (2): 166–76.
- Margaglione, M., Colaizzo, D., D'Andrea, G., Brancaccio, V., Ciampa, A., Grandone, E. and Di Minno, G. (2000). "Genetic Modulation of Oral Anticoagulation with Warfarin." *Thrombosis and Haemostasis* 84 (5): 775–78.
- McCarthy, M. I., Abecasis, G. R., Cardon, L. R., Goldstein, D. B., Little, J., Ioannidis, J. P. A. and Hirschhorn, J. N. (2008). "Genome-Wide Association Studies for Complex Traits: Consensus, Uncertainty and Challenges." *Nature Reviews Genetics* 9 (5): 356–69.
- Meyer, H. (2011). "Coding Complexity: US Health Care Gets Ready for the Coming Of ICD-10." *Health Affairs (Project Hope)* 30 (5): 968–74.
- Meyer, U. A., Zanger, U. M. and Schwab, M. (2013). "Omics and Drug Response." *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 53 (1): 475–502.
- Mitt, M., Kals, M., Pärn, K., *et al.* (2017). "Improved Imputation Accuracy of Rare and Low-Frequency Variants Using Population-Specific High-Coverage WGS-Based Imputation Reference Panel." *European Journal of Human Genetics*, April.
- Morais, S. M. de, Wilkinson, G. R., Blaisdell, J., Nakamura, K., Meyer, U. A. and Goldstein, J. A. (1994). "The Major Genetic Defect Responsible for the Polymorphism of S-Mephenytoin Metabolism in Humans." *The Journal of Biological Chemistry* 269 (22): 15419–22.
- Motsinger-Reif, A. A., Jorgenson, E., Relling, M.-V., Kroetz, D. L., Weinshilboum, R., Cox, N. J. and Roden, D. M. (2013). "Genome-Wide Association Studies in Pharmacogenomics: Successes and Lessons." *Pharmacogenetics and Genomics* 23 (8): 383–94.
- Nelson, M. R., Johnson, T., Warren, L., Hughes, A. R., Chissoe, S. L., Xu, C.-F. and Waterworth, D. M. (2016). "The Genetics of Drug Efficacy: Opportunities and Challenges." *Nature Reviews Genetics* 17 (4): 197–206.
- Pe'er, I., de Bakker, P. I. W., Maller, J., Yelensky, R., Altshuler, D. and Daly, M. J. (2006). "Evaluating and Improving Power in Whole-Genome Association Studies Using Fixed Marker Sets." *Nature Genetics* 38 (6): 663–67.

- Pearson, T. A. and Manolio, T. A. (2008). "How to Interpret a Genome-Wide Association Study." *JAMA : The Journal of the American Medical Association* 299 (11): 1335–44.
- Pettersson, F. H., Anderson, C. A., Clarke, G. M., Barrett, J. C., Cardon, L. R., Morris, A. P. and Zondervan, K. T. (2009). "Marker Selection for Genetic Case-Control Association Studies." *Nature Protocols* 4 (5): 743–52.
- Price, A. L., Patterson, H.J., Plenge, R. M., Weinblatt, M. E., Shadick, N. A. and Reich, D. (2006). "Principal Components Analysis Corrects for Stratification in Genome-Wide Association Studies." *Nature Genetics* 38 (8): 904–9.
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., *et al.* (2007). "PLINK: A Tool Set for Whole-Genome Association and Population-Based Linkage Analyses." *American Journal of Human Genetics* 81 (3): 559–75.
- R Core Team. (2013). "R: A Language and Environment for Statistical Computing." Vienna, Austria. <http://www.r-project.org/>.
- Relling, M. V. and Klein, T. E. (2011). "CPIC: Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium of the Pharmacogenomics Research Network." *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 89 (3): 464–67.
- Ross, S., Anand, S. S., Joseph, P. and Paré, G. (2012). "Promises and Challenges of Pharmacogenetics: An Overview of Study Design, Methodological and Statistical Issues." *JRSM Cardiovascular Disease* 1 (1): 2.
- Rushmore, T. H. and Kong, A.-N.T. (2002). "Pharmacogenomics, Regulation and Signaling Pathways of Phase I and II Drug Metabolizing Enzymes." *Current Drug Metabolism* 3 (5): 481–90.
- Sawada, T., Shinke, T., Shite, J., *et al.* (2011). "Impact of Cytochrome P450 2C19*2 Polymorphism on Intra-Stent Thrombus after Drug-Eluting Stent Implantation in Japanese Patients Receiving Clopidogrel." *Circulation Journal : Official Journal of the Japanese Circulation Society* 75 (1): 99–105.
- Schork, N. J. (2015). "Personalized Medicine: Time for One-Person Trials." *Nature* 520 (7549): 609–11.
- Schwab, M. and Schaeffeler, E. (2012). "Pharmacogenomics: A Key Component of Personalized Therapy." *Genome Medicine* 4 (11): 93.
- SEARCH Collaborative Group, Link, E., Parish, S., Armitage, J., Bowman, L., Heath, S., Matsuda, J., Gut, I., Lathrop, M. and Collins, R. (2008). "SLCO1B1 Variants and Statin-Induced Myopathy--a Genomewide Study." *The New England Journal of Medicine* 359 (8): 789–99.
- Senn, S. (2004). "Individual Response to Treatment: Is It a Valid Assumption?" *BMJ* 329 (7472): 966–68.
- Shuldiner, A. R., Relling, M. V., Peterson, *et al.* (2013). "The Pharmacogenomics Research Network Translational Pharmacogenetics Program: Overcoming Challenges of Real-World Implementation." *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 94 (2): 207–10.
- Sibbing, D., Koch, W., Gebhard, D., *et al.* (2010). "Cytochrome 2C19*17 Allelic Variant, Platelet Aggregation, Bleeding Events, and Stent Thrombosis in Clopidogrel-Treated Patients with Coronary Stent Placement." *Circulation* 121 (4).

- Sibbing, D., Koch, W., Massberg, S., Byrne, R. A., Mehilli, J., Schulz, S., Mayer, K., Bernlochner, I., Schömig, A. and Kastrati, A. (2011). "No Association of Paraoxonase-1 Q192R Genotypes with Platelet Response to Clopidogrel and Risk of Stent Thrombosis after Coronary Stenting." *European Heart Journal* 32 (13): 1605–13.
- Sim, S. C., Altman, R. B. and Ingelman-Sundberg, M. (2011). "Databases in the Area of Pharmacogenetics." *Human Mutation* 32 (5): 526–31.
- Sim, S. C. and Ingelman-Sundberg, M. (2010). "The Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Website: A Peer-Reviewed Database of CYP Variants and Their Associated Effects." *Human Genomics* 4 (4): 278–81.
- Sim, S., Risinger, S., Dahl, M., Aklillu, E., Christensen, M., Bertilsson, L. and Ingelman-Sundberg, M. (2006). "A Common Novel CYP2C19 Gene Variant Causes Ultrarapid Drug Metabolism Relevant for the Drug Response to Proton Pump Inhibitors and Antidepressants." *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 79 (1): 103–13.
- Simon, T., Steg, P. G., Becquemont, L., Verstuyft, C., Kotti, S., Schiele, F., Ferrari, E., Drouet, E., Grollier, G. and Danchin, N. (2011). "Effect of Paraoxonase-1 Polymorphism on Clinical Outcomes in Patients Treated with Clopidogrel after an Acute Myocardial Infarction." *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 90 (4): 561–67.
- Sistonen, J., Sajantila, A., Lao, O., Corander, J., Barbuji, G. and Fuselli, S. (2007). "CYP2D6 Worldwide Genetic Variation Shows High Frequency of Altered Activity Variants and No Continental Structure." *Pharmacogenetics and Genomics* 17 (2): 93–101.
- Spencer, C. C. A., Su, Z., Donnelly, P. and Marchini, J. (2009). "Designing Genome-Wide Association Studies: Sample Size, Power, Imputation, and the Choice of Genotyping Chip." *PLoS Genetics* 5 (5): e1000477.
- Stubbs, M. J., Harries, L. W., Smith, G., Tarbit, M. H. and Wolf, C. R. (1996). "Genetic Analysis of the Human Cytochrome P450 CYP2C9 Locus." *Pharmacogenetics* 6 (5): 429–39.
- Sullivan, G. M. and Feinn, R. (2012). "Using Effect Size-or Why the P Value Is Not Enough." *Journal of Graduate Medical Education* 4 (3). Accreditation Council for Graduate Medical Education: 279–82.
- Swen, J. J., Nijenhuis, M., de Boer, A., et al. (2011). "Pharmacogenetics: From Bench to Byte— An Update of Guidelines." *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 89 (5): 662–73.
- Szumilas, M. (2010). "Explaining Odds Ratios." *Journal of the Canadian Academy of Child and Adolescent Psychiatry = Journal de l'Académie Canadienne de Psychiatrie de L'enfant et de L'adolescent* 19 (3). Canadian Academy of Child and Adolescent Psychiatry: 227–29.
- Thompson, M. A., Aberg, J. A., Hoy, J. F., et al. (2012). "Antiretroviral Treatment of Adult HIV Infection." *JAMA* 308 (4): 387–402.
- Thorn, C. F., Klein, T. E. and Altman, R. B. (2010). "Pharmacogenomics and Bioinformatics: PharmGKB." *Pharmacogenomics* 11 (4): 501–5.
- Thorn, C., Klein, T. E. and Altman, R. B. (2013). "PharmGKB: The Pharmacogenomics Knowledge Base." *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)* 1015: 311–20.
- Tiroch, K. A., Sibbing, D., Koch, W., Roosen-Runge, T., Mehilli, J., Schömig, A. and Kastrati, A. (2010). "Protective Effect of the CYP2C19 *17 Polymorphism with Increased Activation of Clopidogrel on Cardiovascular Events." *American Heart Journal* 160 (3): 506–12.

- Tirona, R. G., Leake, B. F., Merino, G. and Kim, R. B. (2001). "Polymorphisms in OATP-C: Identification of Multiple Allelic Variants Associated with Altered Transport Activity among European- and African-Americans." *The Journal of Biological Chemistry* 276 (38): 35669–75.
- Vasiliou, V., Vasiliou, K. and Nebert, D. W. (2009). "Human ATP-Binding Cassette (ABC) Transporter Family." *Human Genomics* 3 (3): 281–90.
- Viechtbauer, W. (2010). "Conducting Meta-Analyses in {R} with the {metafor} Package." *Journal of Statistical Software* 36 (3): 1–48.
- Vogel, F. (1959). "Moderne Probleme Der Humangenetik." In *Ergebnisse Der Inneren Medizin Und Kinderheilkunde*, 52–125.
- Voorra, D., Shah, S., Spasojevic, I., Ali, S., Reed, C., Salisbury, B. and Ginsburg, G. (2009). "The SLCO1B1*5 Genetic Variant Is Associated With Statin-Induced Side Effects." *Journal of the American College of Cardiology* 54 (17): 1609-16
- Weinshilboum, R. (2003). "Richard Weinshilboum: Pharmacogenetics: The Future Is Here!" *Molecular Interventions* 3 (3): 118–22.
- Whirl-Carrillo, M., McDonagh, E. M., Hebert, J. M., Gong, L., Sangkuhl, K., Thorn, C. F., Altman, R. B and Klein, T. E. (2012). "Pharmacogenomics Knowledge for Personalized Medicine." *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 92 (4): 414–17.
- WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology, (2012). Guidelines for ATC classification and DDD assignment 2013. Oslo.
- Wu, H., Qian, J., Xu, J., Sun, A., Sun, W., Wang, Q. and Ge, J. (2012). "Effects of CYP2C19 Variant Alleles on Postclopidogrel Platelet Reactivity and Clinical Outcomes in an Actual Clinical Setting in China." *Pharmacogenetics and Genomics* 22 (12): 887–90.
- Wilkinson, G. R. (2005). "Drug Metabolism and Variability among Patients in Drug Response." *The New England Journal of Medicine* 352: 2211-21.
- Yasmeen, F., Ghafoor, M. B., Khalid, A. W., Latif, W., Mohsin, S. and Khaliq, S. (2015). "Analysis of CYP2C9 Polymorphisms (*2 and *3) in Warfarin Therapy Patients in Pakistan. Association of CYP2C9 Polymorphisms (*2 and *3) with Warfarin Dose, Age, PT and INR." *Journal of Thrombosis and Thrombolysis* 40 (2): 218–24.
- Zheng, X., Levine, D., Shen, J., Gogarten, S. M., Laurie, C. and Weir, B. S. (2012). "A High-Performance Computing Toolset for Relatedness and Principal Component Analysis of SNP Data." *Bioinformatics* 28 (24): 3326–28.
- Zhou, S.-F., Di, Y. M., Chan, E. et al. (2008). "Clinical Pharmacogenetics and Potential Application in Personalized Medicine." *Current Drug Metabolism* 9 (8): 738–84.
- Zondervan, K. T. and Cardon, L. R. (2007). "Designing Candidate Gene and Genome-Wide Case-Control Association Studies." *Nature Protocols* 2 (10): 2492–2501.

KASUTATUD VEEBIAADRESSID

1. <http://www.cypalleles.ki.se/cyp2c9.htm> Kasutatud 4.05.2017.
2. <http://www.cypalleles.ki.se/cyp2c19.htm> Kasutatud 4.05.2017.
3. <http://www.cypalleles.ki.se/> Kasutatud 4.05.2017.
4. <https://www.drugbank.ca> Kasutatud 5.05.2017.
5. <https://portal.biobase-international.com/archive/documents/pgmdstats.pdf>
Kasutatud 6.05.2017.
6. <https://www.fda.gov/Drugs/ScienceResearch/ResearchAreas/Pharmacogenetics/ucm083378.htm> Kasutatud 6.05.2017.
7. <https://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/adultandadolescentgl.pdf>
Kasutatud 6.05.2017.
8. <http://www.who.int/classifications/icd/en/HistoryOfICD.pdf> Kasutatud 7.05.2017.
9. <https://www.riigiteataja.ee/akt/163343K> Kasutatud 20.05.2017.
10. https://www.whocc.no/atc_ddd_methodology/history/ Kasutatud 20.05.2017.
11. <https://www.pharmgkb.org/search/clinicalAnnotationList.action?levelOfEvidence=top>
Kasutatud 9.12.2016.
12. [https://www.dropbox.com/s/4u8yfm9s7o0tqf0/MJaama_mag_lisa_tabel_veeb.pdf?
dl=0](https://www.dropbox.com/s/4u8yfm9s7o0tqf0/MJaama_mag_lisa_tabel_veeb.pdf?dl=0)
13. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed> Kasutatud 20.05.2017.
14. <https://www.snpedia.com/index.php/Rs1057910> Kasutatud 20.05.2017.
15. <https://www.pharmgkb.org> Kasutatud 20.05.2017.
16. <https://www.ravimiamet.ee/2016-aastal-laekunud-ravimi-korvaltoime-teatised>
Kasutatud 20.05.2017.
17. pub.e-tervis.ee/classifications/ATC/1/1.xls Kasutatud 20.05.2017.
18. <http://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2010/en> Kasutatud 20.05.2017.
19. <http://rhk.sm.ee> Kasutatud 20.05.2017.

LISAD

Lisa 1. Referentsandmestikust pärit ravimite loend.

ATC kood	Eestikeelne raviminimetus (ATC koodi vaste) ¹⁷
J05AF06	abakaviir
B01AA07	atsenokumarool
M04AA01	allopurinool
J01GB	teised aminoglükosiidid
N06AA09	amitriptüliin
P01BE03	artesunate
B01AC83	klopidogreel+atsetüülsalitsüülhape
N02BA01	atsetüülsalitsüülhape
N02BA80	atsetüülsalitsüülhape+askorbiinhape
B01AC06	atsetüülsalitsüülhape
B01AC80	atsetüülsalitsüülhape+magneesiumoksiid
J05AE08	atasanaviir
C10AA05	atorvastatiin
L04AX01	asatiopriin
L01BC06	kapetsitabiin
N03AF01	karbamasepiin
P01BB	biguaaniidid
L01XA01	tsisplatiin
N06AB04	tsitalopraam
N06AA04	klomipramiin
B01AC04	klopidogreel
J04BA02	dapsoon
N06AA12	doksepiin
L01BC02	fluorouratsiil
N06AB03	fluoksetiin
N06AA02	imipramiin
J05AE02	indinaviir
V03AF03	kaltsiumfolinaat
N06AA21	maprotiilin
L01BB02	merkaptopuriin
L04AX03	metotreksaat (immunosupressant)
L01BA01	metotreksaat (antimetaboliit)
N06AA10	nortriptüliin
N06AA05	opipramool
N03AA02	fenobarbitaal
N03AB02	fenütoiin
C10AA03	pravastatiin
L01BB	puriini analoogid
J05AE03	ritonaviir
C10AA01	simvastatiin
L01BC03	tegafuur
L01BB03	tioguaniin
N02AX02	tramadool
N06AA06	trimipramiin
B01AA03	varfariin
N03AX15	zonisamiid

¹⁷ pub.e-tervis.ee/classifications/ATC/1/1.xls

Lisa 2. Rahvusvaheline Haiguste Klassifikatsioon (ICD-10) peatükkide kaupa (aluseks WHO veebilehekülg¹⁸, Sotsiaalministeeriumi andmebaas¹⁹).

Peatükk	Kood	Nimetus
1	A00-B99	Teatavad nakkus- ja parasiithaigused
2	C00-D48	Kasvajad
3	D50-D89	Vere- ja vereloomeelundite haigused ning teatavad immuunmehhanismidega seotud haigusseisundid
4	E00-E90	Sisesekretsiooni-, toitumis- ja ainevahetushaigused
5	F00-F99	Psüühika- ja käitumishäired
6	G00-G99	Närvisüsteemihaigused
7	H00-H59	Silma- ja silmamanuste haigused
8	H60-H95	Kõrva- ja nibujätkehaigused
9	I00-I99	Vereringeelundite haigused
10	J00-J99	Hingamiselundite haigused
11	K00-K93	Seedeelundite haigused
12	L00-L99	Naha- ja nahaaluskoe haigused
13	M00-M99	Lihaskonna ja sidekoehaigused
14	N00-N99	Kuse-suguelundite haigused
15	O00-O99	Rasedus, sünnitus ja sünnitusjärgne periood
16	P00-P96	Perinataal- e sünniperioodis tekkivad teatavad seisundid
17	Q00-Q99	Kaasasündinud väärarendid, deformatsioonid ja kromosoomianomaaliad
18	R00-R99	Mujal klassifitseerimata sümptomid, tunnused ja kliiniliste ning laboratoorsete leidude hálbed
19	S00-T98	Vigastused, mürgistused ja teatavad muud välispõhjuse toime tagajärjed
20	V01-Y98	Haigestumise ja surma välispõhjused
21	Z00-Z99	Tervise seisundit mõjustavad tegurid ja kontaktid tervise teenistusega
22	U00-U99	Koodid spetsiifiliste eesmärkide jaoks

¹⁸ <http://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2010/en>

¹⁹ <http://rhk.sm.ee>

Lisa 3. Nimekiri töös kasutatud ravimi kõrvaltoimetega seotud ICD-10 koodidest.

E03.2	Ravimite ja muude eksogeensete ainete põhjustatud hüpotüreos
E06.4	Ravimitekkene türeoidiit
E16.0	Ravimitekkene koomata hüpoglükeemia
E66.1	Ravimitekkene rasvumus
E87.1	Hüpo-osmolaalsus ja hüponatreemia
F23.8	Muud ägedad psühhootilised episoodid
G24.0	Ravimitekkene düstoonia
G44.4	Mujal klassifitseerimata ravimitekkene peavalu
G62.0	Ravimitekkene polüneuropaatia
G72.8	Muud täpsustatud müopaatia
G72.9	Täpsustamata müopaatia
H26.3	Ravimitekkene katarakt
I42.7	Ravimite ja muude välistegurite põhjustatud kardio(müo)paatia
I47.2	Ventrikulaarne tahhükardia
I49.0	Südamevatsakeste virvendus ja laperdus
I95.2	Ravimitest tingitud hüpotensioon
J38.4	Kõriturse e kõriõdeem
J38.5	Kõrispasm
J70.2	Ravimi põhjustatud ägedad kopsude interstitsiaalsed haigusseisundid
K71.0	Maksatoksikoos sapipaisu e kolestaasiga
K71.1	Ravimitest põhjustatud (äge; krooniline) maksapuudulikkus
K71.8	Maksatoksikoos maksa muude talitlushäiretega
K71.9	Täpsustamata maksatoksikoos
K72.0	Äge ja alaäge maksapuudulikkus
K76.9	Täpsustamata maksahaigus
L23.3	Nahale toimivate ravimite põhjustatud allergiline kontaktdermatiit
L24.4	Nahale toimivate ravimite põhjustatud ärritav kontaktdermatiit
L25.1	Nahale toimivate ravimite põhjustatud täpsustamata kontaktdermatiit
L27.0	Üldine nahalööve rohtudest ja ravimitest
L27.1	Piirdunud nahalööve rohtudest ja ravimitest
L50.0	Allergiline nõgeslööve
L50.8	Muu nõgeslööve
L50.9	Täpsustamata nõgeslööve
L51.0	Mitmekujuline põienditeta nahaverevus
L56.1	Fotoallergiline reaktsioon ravimile
M10.2	Ravimite põhjustatud podagra
M60.8	Muu müosiit
M60.9	Täpsustamata lihasepõletik e müosiit
M66.5	Täpsustamata kõõluse spontaanne rebend
M87.1	Ravimite põhjustatud luukärbus
N14.0	Analgeetikuminefropaatia
R05	Köha
R74.0	Transaminaasi ja piimhappe dehüdrogenaasi taseme tõus
R82.5	Rohtude, ravimite ja bioloogiliste ainete kõrgeenenud uriinitasemed
T37.1	Mürgistus müobakterivastaste ravimitega
T39.0	Mürgistus salitsülaatidega
T39.1	Mürgistus 4-aminofenooli derivaatidega
T39.8	Mürgistus muude mujal klassifitseerimata mitteopioid-analgeetikumide ja antipüreetikumidega
T42	Mürgistus antiepileptikumide, sedatiiv-hüpnootiliste ja parkinsonismivastaste ravimitega

T42.1	Mürgistus iminostilbeenidega
T42.4	Mürgistus bensodiasepiinidega
T42.6	Mürgistus muude antiepileptikumide ja sedatiiv-hüpnootiliste ravimitega
T43	Mürgistus mujal klassifitseerimata psühhotroopsete ravimitega
T43.0	Mürgistus tritsükliliste ja tetratsükliliste antidepressantidega
T43.2	Mürgistus muude ja täpsustamata antidepressantidega
T43.5	Mürgistus muude ja täpsustamata antipsühhootikumide ja neuroleptikumidega
T43.9	Mürgistus täpsustamata psühhotroopse ravimiga
T44.7	Mürgistus mujal klassifitseerimata beeta-adrenoretseptorite antagonistidega
T45.5	Mürgistus antikoagulantidega
T46.0	Mürgistus südant stimuleerivate glükosiidide ja sama toimega ravimitega
T47	Mürgistus peamiselt seedeelundesse toimivate vahenditega
T50	Mürgistus diureetikumide ja muude ning täpsustamata ravimite ja bioloogiliste ainetega
T50.1	Mürgistus lingudiureetikumidega
T50.8	Mürgistus diagnostikumidega
T50.9	Mürgistused muude ja täpsustamata ravimite, medikamentide ja bioloogiliste vahenditega
T78.2	Täpsustamata anafülaktiline šokk
T78.3	Angioneurootiline turse
T88.7	Rohu või ravimi täpsustamata kahjulik toime
X40	Juhuslik mürgistus mitteopioidsete analgeetikumide, antipüreetikumide või antireumaatikumidega ning nende toime
X40.01	Juhuslik mürgistus mitteopioidsete analgeetikumide, antipüreetikumide või antireumaatikumidega ning nende toime
X41.91	Juhuslik mürgistus antiepileptikumide, sedatiivhüpnootiliste, parkinsonismivastaste või mujal klassifitseerimata psühhotroopsete ravimitega ning nende toime tahhükardia
X44	Juhuslik mürgistus muude ja täpsustamata rohtude, ravimite või bioloogiliste ainetega ning nende toime
X44.09	Juhuslik mürgistus muude ja täpsustamata rohtude, ravimite või bioloogiliste ainetega ning nende toime
X44.28	Juhuslik mürgistus muude ja täpsustamata rohtude, ravimite või bioloogiliste ainetega ning nende toime
X44.99	Juhuslik mürgistus muude ja täpsustamata rohtude, ravimite või bioloogiliste ainetega ning nende toime
Y40.0	Ravimisel ebasoodsat toimet avaldavad süsteemsed penitsilliinid
Y43.3	Ravimisel ebasoodsat toimet avaldavad muud kasvjavastased ained
Y44.2	Ravimisel ebasoodsat toimet avaldavad antikoagulandid
Y47	Ravimisel ebasoodsat toimet avaldavad rahustid, uinutid ja ärevusvastased ravimid e trankvillisaatorid
Y55.6	Kirurgilise või muu meditsiiniabi tüsistused
Y57.5	Kirurgilise või muu meditsiiniabi tüsistused
Y59.0	Kirurgilise või muu meditsiiniabi tüsistused
Y88.0	Rohtude, raviainete ja bioloogiliste ainete põhjustatud ebasoodsa toime hilisnäht
Z88.1	Muude antibiootiliste toimurite allergia anamneesis
Z88.8	Muu uimasti-, ravimi- ja bioloogiliste ainete allergia anamneesis

LIHTLITSENTS

Mina, Mattis Jaama

(sünnikuupäev: 28.05.1992)

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose

Kõrge olulisusega ravimi kõrvaltoimeid põhjustavate farmakogeneetiliste seoste replikatsioon Eesti Geenivaramu andmetel,

mille juhendajad on Tõnis Tasa ja Lili Milani,

1.1. reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

1.2. üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, 31.05.2017